

REVISTA
DO
INSTITUTO ADOLFO LUTZ

LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA

VOL. 9 • 1949 • NUM. ÚNICO



SÃO PAULO • BRASIL

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

Fundador:

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

Diretor:

DR. ARIOSTO BÜLLER SOUTO

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

DR. ARIOSTO BÜLLER SOUTO

Avenida Dr. Arnaldo, 3

Caixa Postal 7027

São Paulo — Brasil

REVISTA
DO
INSTITUTO ADOLFO LUTZ

LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA

VOL. 9

1949

NÚMERO ÚNICO



SÃO PAULO — BRASIL

SUMÁRIO

ZELNOR PAIVA MAGALHÃES — Esquistosomiase mansoni. Novo foco autóctone em Santos	5
J. B. FERRAZ DE MENEZES JUNIOR — Investigações sôbre o exame microscópico de algumas substâncias alimentícias	18
DECIO DE OLIVEIRA PENNA, HASSIB ASHCAR, CELIO FONTÃO CARRIL e MURILLO R. VIOTTI — Associação de penicilina G-procaína e penicilina potássica: níveis sangüíneos e aplicação no tratamento da pneumonia lobar	78
OCTAVIO BARACCHINI — <i>Salmonella typhimurium</i> isolada de um caso de meningite cerebrospinal	92
B. NEME e HASSIB ASHCAR — Penicilina G-procaína na operação cesárea: níveis sangüíneos e ação terapêutica	95
JOSÉ ROBERTO CARNEIRO NOVAES, AUGUSTO DE E. TAUNAY e SYLVIO SOARES DE ALMEIDA — Tipagem de salmonelas no laboratório de saúde pública	115
MARIA ELISA WOHLERS DE ALMEIDA — Sôbre o valor da dosagem de esqualeno em óleos vegetais	123
LUÍS DE SALLES GOMES — Breve comentário sôbre o interessante caso de Leishmaniose cutâneo-mucosa observado em Irupana — (Bolívia)	137
LUÍS DE SALLES GOMES — Método fácil e rápido para coloração de treponemas	143

ESQUISTOSOMÍASE MANSONI. NOVO FOCO AUTÓCTONE EM SANTOS.*

ZELNOR PAIVA MAGALHÃES

Do Instituto "Adolfo Lutz"
Laboratório Regional de Santos

Em fins de 1945, no Laboratório Regional de Santos, do Instituto "Adolfo Lutz", quando procedíamos ao exame das fezes de alunos de Grupos Escolares, a pedido do Serviço de Saúde Escolar do Estado, encontramos um caso positivo para ovos de *Schistosoma mansoni*. Procurando identificar o doente, verificamos tratar-se de J. S. M., de côr branca, sexo masculino, 13 anos de idade, residente à rua Rangel Pestana, n.º 266 (ligação 27), no bairro do Jabaquara. Interrogado, informou-nos nunca ter residido fora dali, onde nasceu, e nunca ter estado no bairro do Saboó, onde poucos meses atrás LEÃO DE MOURA (1945) havia descoberto importante foco autóctone dessa terrível parasitose. Sua casa estava localizada em uma zona de plantações, onde predominavam as valas de cultivo de agrião (*Nasturtium officinale*), nas quais divisamos imensa quantidade de caramujos do gênero *Australorbis* (fot. 1, 2 e 3).

As condições de higiene do local eram as piores possíveis. As fezes eram aproveitadas como adubo, sendo as fossas sanitárias, por êsse motivo, colocadas diretamente sôbre as valas de irrigação das verduras destinadas ao consumo do povo.

Os chacareiros e suas famílias, despreocupadamente, caminhavam descalços e mergulhavam seus braços nus nessas valas poluídas de fezes e repletas de *Australorbis*.

Tôdas as condições necessárias à evolução e propagação da Esquistosomíase mansoni estavam, pois, ali presentes, o que nos fêz suspeitar estarmos em face de um novo foco autóctone dessa verminose.

Autorizado pelo Dr. José Pedro de Carvalho Lima, então diretor do Instituto "Adolfo Lutz", e pelo Dr. Leão de Moura, Chefe do Laboratório Regional de Santos, iniciamos o levantamento dos

Recebido para publicação em junho de 1949.

(*) Trabalho apresentado à Associação dos Médicos de Santos em 25 de novembro de 1948.

moradores dessa zona, a fim de procedermos ao exame parasitológico de suas fezes.

Na feitura do cadastro fomos auxiliados pelo técnico de laboratório Sr. Manoel Soares de Brito e pelos escriturários Srs. Sérgio Campos e Manoel da Silva Monforte Júnior. O auxiliar de laboratório Sr. Ciro Gomes foi incumbido de distribuir as latinhas e trazê-las de volta ao Instituto onde, na Secção de Exames de Rotina, procedíamos ao exame das fezes, auxiliado pelos técnicos de laboratório Sr. Maciste Santos Remião e Srta. Beatriz Gomes Cardoso e pelos práticos de laboratório Srtas. Edith Fontes Prado e Marcelina Palheiras, tendo o Sr. Cipriano Américo Villas Filho como servente.

LOCALIZAÇÃO DO NOVO FOCO

O novo foco autóctone de Esquistosomíase mansoni, descrito no presente trabalho, abrange extensa área que se estende paralelamente ao flanco esquerdo da Santa Casa de Misericórdia, separada desta apenas pelo espaço compreendido entre a rua Rangel Pestana e a avenida Francisco Manoel, a qual área se prolonga ainda até as fraldas dos morros do Fontana e da Nova Cintra, sempre à direita daquela via pública (fot. 4 e planta anexa).

PESSOAS INFESTADAS PELO SCHISTOSOMA MANSONI

Nos 775 exames de fezes realizados, de abril de 1946 a janeiro de 1947, encontramos 37 casos positivos para *Schistosoma mansoni*, ou sejam, 4,77%.

Para não prejudicar o serviço habitual do Laboratório, cada material era examinado apenas uma vez, só se pedindo nova amostra nos casos cuja anamnese era muito suspeita. Se assim procedêssemos habitualmente, por certo iríamos encontrar um índice de infestação maior.

Além do exame direto, fazíamos para cada amostra os processos de enriquecimento para ovos de Ancilostomídeos (processo de Willis) e de Trematódeos (métodos de sedimentação em cálices cônicos e centrifugação pela técnica de Abdon Lins).

Para o enriquecimento dos ovos de *Schistosoma mansoni* usamos, ainda, a título de experiência, um processo de filtração ideado pelo técnico deste Laboratório Regional, Sr. Maciste Santos Remião.



Foto 1



Foto 2

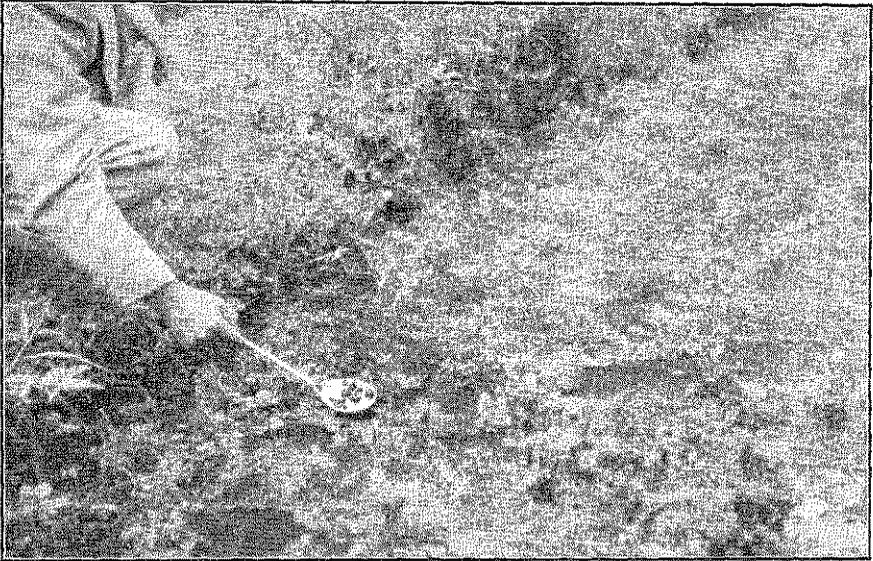


Foto 3

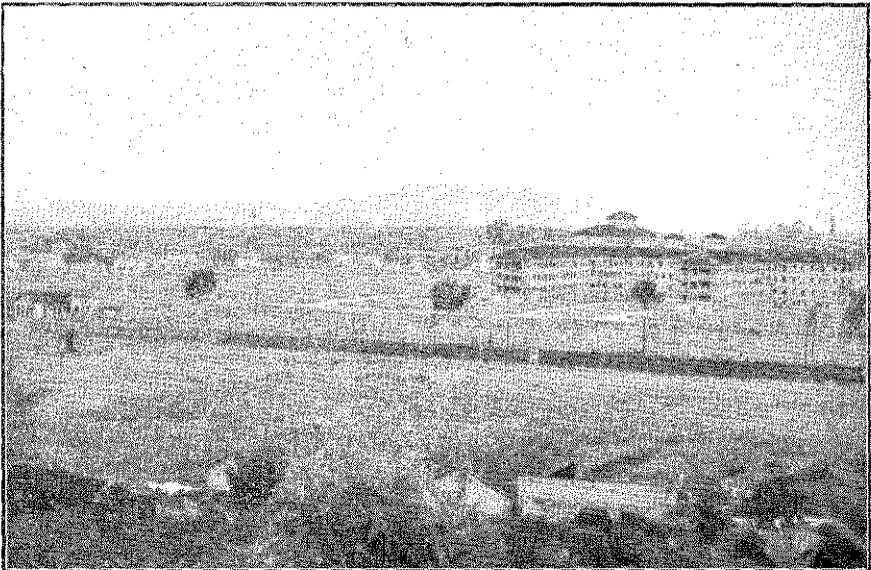


Foto 4

Este método, que consiste na separação dos resíduos alimentares de maiores dimensões pela passagem do material diluído através de uma gaze dobrada em dois e na separação dos ovos de *Schistosoma mansoni* por filtração em tecidos de malhas mais estreitas, capazes de os reterem, nos proporcionou sempre melhores resultados que os demais.

Resumiremos em poucas palavras sua técnica, aguardando publicação detalhada, que será feita em breve pelo Autor.

TÉCNICA

Dissolve-se cerca de 5 gramas de fezes em 30cc de água. Faz-se essa diluição atravessar uma gaze dobrada em dois. Com isto consegue-se um filtrado mais ou menos homogêneo, que é passado, agora, através de um funil montado com opalina de cor branca, contendo 30x30 fios por centímetro quadrado.

Retira-se a opalina do funil e corta-se seu cone terminal cerca de 3 cm da ponta, estendendo-o sobre uma das extremidades de uma lâmina larga. Fixa-se o tecido sobre a lâmina com uma pinça e, com o auxílio de uma lâmina estreita, arrasta-se todo o resíduo aí contido para a outra extremidade da lâmina, cobrindo-se com uma lamínula e levando-se ao microscópio. Deve-se, também, nos casos negativos, examinar ao microscópio o próprio tecido raspado.

Nos casos positivos, a pesquisa de ovos no líquido resultante da 2.^a filtração era sempre negativa, mostrando, assim, a eficácia do filtro de opalina, que tem por função, como dissemos, reter os ovos de *Schistosoma mansoni*.

RELAÇÃO DOS CASOS POSITIVOS

N.º de ordem	Nome	Idade em annos	Sexo	Naturalidade	Residência
1	F.S.	12	masc.	Portugal	r. Rangel Pestana, 468
2	J.R.	18	"	Santos	r. Rangel Pestana, 472
3*	H.I.	14	"	"	C. D. S. — casa n.º 24
4	N.C.	33	"	"	Casa Branca, 102
5	N.C.F.	7	"	"	Casa Branca, 102
6	J.C.	11	"	"	r. Rangel Pestana, 266-lig. 17
7	A.S.	9	"	"	Cam. Part. Casa Branca, lig. 21
8	S.S.	6	"	"	Cam. Part. Casa Branca, lig. 21
9	E.A.L.	21	"	Alagoas	Cam. Part. Casa Branca, lig. 38
10	M.E.T.	14	fem.	Santos	Casa Branca, lig. 14
11	I.T.	12	"	"	Casa Branca, lig. 14
12	A.B.	11	masc.	Sta. Cruz das Pal-meiras (S. P.)	Casa Branca, lig. 19
13	A.M.	24	fem.	S. J. Boa Vista	r. Rangel Pestana, lig. 19
14	M.B.G.	12	masc.	Santos	r. Rangel Pestana, lig. 38
15	A.S.	13	fem.	"	r. Rangel Pestana, lig. 22
16	J.S.	18	masc.	"	r. Rangel Pestana, lig. 23
17	R.S.	11	fem.	"	r. Rangel Pestana, lig. 23
18	P.S.	16	masc.	"	r. Rangel Pestana, lig. 23
19	M.G.	26	"	Sorocaba	r. Rangel Pestana, lig. 39
20	M.C.	49	fem.	São Paulo	r. Rangel Pestana, lig. 33
21	J.C.F.F.	19	masc.	Sto. André	r. Rangel Pestana, lig. 33
22	J.C.F.	16	"	"	r. Rangel Pestana, lig. 33
23	J.S.	24	fem.	Alagoas	r. Rangel Pestana, lig. 1
24	T.V.	39	masc.	Santos	r. Rangel Pestana, lig. 1
25	O.P.L.	15	"	"	r. Rangel Pestana, lig. 68
26	M.B.	12	"	"	r. Rangel Pestana, lig. 70
27	S.K.	50	"	Japão	r. Rangel Pestana, lig. 23
28	O.K.	4	fem.	Santos	r. Rangel Pestana, lig. 23
29	C.S.	48	"	Japão	r. Rangel Pestana, lig. 23
30	J.S.M.	13	masc.	Santos	r. Rangel Pestana, 266-lig. 27
31	T.S.M.	4	fem.	"	r. Rangel Pestana, 266-lig. 27
32	O.S.M.	11	"	"	r. Rangel Pestana, 266-lig. 27
33	A.S.M.	8	masc.	"	r. Rangel Pestana, 266-lig. 27
34	R.R.M.	32	fem.	"	r. Rangel Pestana, 266-lig. 27
35	A.S.	16	masc.	"	r. Rangel Pestana, lig. 38
36	J.M.S.	26	"	"	r. Rangel Pestana, lig. 38
37	Y.K.	50	"	Japão	r. Rangel Pestana, lig. 23

(*) N.º 3 — Este caso refere-se à pessoa residente em casa da Cia. Docas, à esquerda da rua Rangel Pestana, fora da zona por nós delimitada, embora tenha sido infestado nesta.

Destas 37 pessoas infestadas, 25 nasceram e residiram sempre em Santos.

Os 12 casos restantes estão assim distribuídos:

- 3 — nascidos no Japão, todos residentes em Santos há 20 anos;
- 1 — nascido em Portugal, residindo em Santos há 9 anos;
- 2 — nascidos em Alagoas, residentes em Santos há 1 e 6 anos, respectivamente;
- 1 — nascido em Santa Cruz das Palmeiras (E.S.P.), residente em Santos há 5 anos;
- 1 — nascido em Sorocaba, residindo em Santos há 1 ano;
- 1 — nascido em S. João da Boa Vista, residindo em Santos há 3 anos;
- 1 — nascido em São Paulo, residindo em Santos há 15 anos;
- 2 — nascidos em Santo André, residindo em Santos há 5 anos.

Além dos doentes que nunca residiram fora daqui, podemos considerar ainda, como casos autóctones, todos os demais, com exceção, talvez, dos 2 alagoanos, provindos de um grande foco de esquistosomíase.

DISTRIBUIÇÃO DOS PORTADORES PELA IDADE

dos	4	aos	10	anos	6	casos	16,21%
"	11	aos	17	anos	16	casos	43,24%
"	18	aos	24	anos	6	casos	16,21%
"	25	aos	31	anos	2	casos	5,40%
"	32	aos	38	anos	2	casos	5,40%
"	38	aos	44	anos	1	caso	2,70%
"	44	aos	52	anos	4	casos	10,81%

DISTRIBUIÇÃO PELO SEXO

Masculinos	23	62,16%
Femininos	14	37,84%

INCIDÊNCIA DE OUTRAS HELMINTÍASES

A incidência das demais verminoses nos moradores desta zona foi extraordinariamente elevada, como se pode ver pelo quadro abaixo:

<i>Trichocephalus trichiurus</i>	672	86,71%
<i>Ascaris lumbricoides</i>	562	72,52%
<i>Necator americanus</i>	330	42,58%
<i>Strongyloides stercoralis</i>	49	6,32%
<i>Enterobius vermicularis</i>	29	3,74%
<i>Taenia</i> sp.	4	0,51%
<i>Hymenolepis nana</i>	1	0,13%
Negativos	46	5,92%

Convém salientar nesse quadro que, dos 775 exames de fezes realizados apenas 46 foram negativos, ou seja, 5,92%.

Com relação à incidência do *Enterobius vermicularis*, naturalmente ela seria mais elevada se tivéssemos usado os processos de colheita de material adequados a essa pesquisa (raspagem da mucosa retal).

OS HOSPEDEIROS INTERMEDIÁRIOS

Submersos nas valas de cultura do agrião, encontramos grande quantidade de caramujos do gênero *Australorbis*, muito semelhantes aos observados por Leão de Moura no foco do Saboó e considerados por êste e por CESAR PINTO (1945) como *Australorbis glabratus*.

Para não prejudicarmos o serviço diário de nosso Laboratório Regional, deixamos de fazer, como era nosso desejo, um estudo sôbre o índice de contaminação dos caramujos pelas furco-cercárias de *Schistosoma mansoni*. Dissecamos apenas uns 80 exemplares, dos quais nenhum estava infectado.

A ESQUISTOSOMÍASE EM SANTOS

Do notável trabalho sôbre a incidência, distribuição e bibliografia da Esquistosomíase mansoni, publicado em 1947 pelo Prof. Dr. JOÃO ALVES MEIRA, tiramos os seguintes dados sôbre a evolução dos estudos sôbre essa parasitose em nossa cidade.

A honra da primeira contribuição coube a Antonio Arantes que, em nota prévia publicada pelos *Anais Paulistas de Medicina e Cirurgia*, em 1923, registrou os 2 primeiros casos autóctones de Esquistosomíase mansoni em Santos, tendo verificado ainda, em colaboração com Pirajá da Silva, a existência de *Planorbis centimetralis* nas proximidades da residência de um dos pacientes. Em setembro de 1924, Arantes comunicou à Sociedade de Medicina e Cirurgia de S. Paulo a observação de mais 9 casos por êle diagnosticados em Santos, elevando-se assim para 11 o número de casos autóctones. Localizou o foco de infecção da verminose em aprêço nas proximidades do morro do Lima, em uma lagoa batizada com o nome de "Lagoa dos Schistosomosos", tendo encontrado ali, caramujos com caracteres semelhantes aos do *Planorbis centimetralis*, segundo a classificação de Lutz, embora os mesmos não se encontrassem infectados com as cercárias do *Schistosoma mansoni*.

Esse foco foi aterrado por iniciativa dêsse colega, extinguido-se, e corresponde hoje, aproximadamente, ao local onde está o novo Hospital da Santa Casa.

La Terza, no Relatório dos exames feitos no laboratório da Santa Casa de Santos, em 1922, assinalou 2 casos positivos para *Schistosoma mansoni*, em um total de 1540 exames de fezes, sem mencionar, porém, a procedência dos pacientes.

Em outubro de 1939, Gonzalez Torres apresentou à Associação Paulista de Medicina um caso de Esquistosomiase mansoni, autóctone em Santos, no bairro de Santa Maria (Apendicite por *Schistosoma mansoni*).

La Terza, em 1939, comunicou por carta ao Prof. João Alves Meira, conhecer um menino portador de *Schistosoma mansoni*, o qual nunca havia saído da cidade, tendo-o, entretanto, perdido de vista. Salientou, também, notar maior incidência dessa verminose em japoneses, pensando haver qualquer "nexo" entre êstes e o *Schistosoma mansoni*.

Em 1942, Leão de Moura, estudando a incidência das parasitoses nas escolas de Santos, publicou o resultado de exames de fezes em 500 alunos que freqüentavam os Grupos Escolares Municipais. Dêstes 500 exames, 473 (94,6%) eram positivos para parasitos intestinais, sendo que os ovos de *Schistosoma mansoni* foram encontrados duas vezes nesse material.

Comentando seus resultados, escreve Leão de Moura: "O Grupo Escolar "Martins Fontes", localizado no bairro do Saboó, foi aquêle em que encontramos maior infestação, o que é natural, porque as crianças desta zona moram na "favela santista", em chalés de madeira, desprovidos de esgôto e de água encanada, ou em casas rústicas, de pau a pique, construídas nas fraldas dos morros que contornam essa parte da cidade. Foi aí que encontramos dois casos de esquistosomose. Nessa zona o Prof. Gonzalez Torres encontrou um caso autóctone que publicou nos *Arquivos de Biologia*. A escassez do tempo não nos permitiu verificar se essas duas crianças se infestaram aí mesmo, o que esperamos fazer dentro em pouco."

Os casos esporádicos que a literatura registra, depois que foi aterrada a "Lagoa dos Schistosomosos" onde se infestaram os doentes de Arantes, estavam a indicar a existência de outros focos da parasitose em Santos.

Com efeito, prosseguindo nas suas investigações, iniciadas em 1940, sôbre os casos já referidos encontrados no Saboó, apresentou Leão de Moura, em 21 de julho de 1945, à Secção de Higiene e Moléstias Parasitárias e Infecciosas da Associação Paulista de Medicina, um trabalho relatando o encontro de 56 casos positivos para

Schistosoma mansoni num total de 575 amostras de fezes fornecidas pelos moradores do aludido bairro.

Portanto, 9,7% das amostras examinadas eram positivas para ovos de *Schistosoma mansoni* e esta elevada percentagem, mostrando existir ali um foco importante da referida parasitose, determinou a continuação de estudos mais aprofundados a respeito. Em outra comunicação, Leão de Moura, em 21 de setembro de 1945, no Instituto "Adolfo Lutz" de São Paulo, referiu que o exame de fezes de 1.126 pessoas residentes na mesma localidade mostrou-se 103 vezes positivo para ovos de *Schistosoma mansoni*, ao que corresponde uma percentagem de 9,14%.

Atendendo à sugestão de Leão de Moura, o Centro de Saúde "Martins Fontes" inaugurou em 24 de novembro de 1945, no Sabão, o 1.º Posto de Profilaxia e Tratamento da Esquistosomíase, que vem combatendo intensamente essa terrível verminose.

PROFILAXIA E TRATAMENTO

Cientificado por nós da existência de novo foco no Jabaquara, o Dr. Nicolino Falci, então responsável pelo Posto de Combate à Esquistosomíase, providenciou logo as primeiras medidas profiláticas, intimando os chacareiros a retirarem suas latrinas da zona de plantações, aterrando as valas de agrião e melhorando as condições de higiene do local.

A título de experimentação, resolvemos iniciar o tratamento desses doentes. Tencionávamos empreender um estudo comparativo entre diversos preparados antimoniais mais recentes, mas, só chegamos a usar um deles, pois a absoluta falta de cooperação por parte dos pacientes, quase todos de nível intelectual muito baixo, tornou tal mister tão difícil que forçados fomos a abandoná-lo na primeira etapa.

Dos 37 doentes convidados a se submeterem ao tratamento e aos quais fornecíamos medicamento, contróle de laboratório, assistência médica, enfim condições que mesmo doentes particulares dificilmente podem ter, apenas 9 (!) atenderam ao nosso chamado.

Em todo o caso, apesar de material tão pobre para uma conclusão segura, relataremos os resultados obtidos.

O medicamento empregado foi o "Stilosoma", cujas amostras nos foram gentilmente oferecidas pelo Laboratório Climax. Trata-se de uma solução a 4,4% de um novo sal antimonial orgânico, trivalente, com 12,1% de antimônio elementar. Fazíamos séries de 20

ampôlas endovenosas, sendo as 4 primeiras de 2cc e as 16 últimas de 4cc. Em crianças usávamos ampôlas da 2cc até o fim (metade da dose). O intervalo entre as injeções variou de 2 a 5 dias, conforme a tolerância.

Dos 9 pacientes tratados, 1 desistiu após a 6.^a injeção, devido à persistência de reações tóxicas, progressivamente mais intensas (náuseas, vômito, tonturas, tosse, anorexia, palpitações, etc.).

Dos 8 que completaram a série, 6 estão curados e 2 continuam eliminando ovos daquele Trematódeo.

Além destes, seis outros pacientes foram tratados por colegas, a nosso pedido, com o mesmo medicamento, nas mesmas condições e ficaram todos curados.

Foram os casos de clientes dos prezados colegas Leão de Moura, Ciro Werneck, José Rosatelli, Manoel Villarinho (2 casos) e Chrisnauro Bacellar, os quais mui gentilmente nos forneceram todos os dados, cooperando assim, para maior realce desse nosso despretencioso estudo.

O contrôle de cura foi feito submetendo cada paciente a pelo menos 3 exames rigorosos de suas fezes, em dias diferentes, logo após terminarem a série do medicamento, mínimo êsse suficiente para dar o paciente como curado, segundo estudos de GETH JANSEN (1946).

Podemos, pois, considerar um total de 13 casos, dos quais 11 curados, ou sejam 84,61%.

Tivemos, portanto, uma percentagem relativamente boa de curas com o emprêgo do "Stilosoma", assim como uma tolerância satisfatória, sendo nosso intuito, porém, confirmá-la, se houver oportunidade, em um maior número de pacientes.

RESUMO

O Autor descreve novo foco autóctone de Esquistosomíase mansoni, em Santos, no bairro do Jabaquara.

Em zona de plantações, onde prevalecem valas de cultivo de agrião comunicando-se com fossas sanitárias, encontra grande quantidade de caramujos do gênero *Australorbis*. Procedendo a exames de fezes de moradores da região registra 17 casos positivos para ovos de *Schistosoma mansoni*, dos quais 25 indiscutivelmente autóctones.

Relata, também, os promissores resultados obtidos submetendo os pacientes ao tratamento por "Stilosoma", sal de antimônio.

SUMMARY

The Author describes a new autochthonous focus of schistosomiasis mansoni in Santos, observed at the district of Jabaquara.

In zones where there are ditches for the cultivation of water-cress in connection with sanitary fosses a great quantity of snails of the genus *Australorbis* is found. Examinations made of the faeces of the inhabitants of the region register 37 positive cases for eggs of Manson's schistosoma, of which 25 are undoubtedly autochthonous.

There are stated also the promising results obtained by treating the patients with antimonium salt ("Stilosoma").

BIBLIOGRAFIA

- JANSEN, G. — 1946 — Profilaxia experimental da esquistosomose de Manson. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 44: 549-578.
- MEIRA, J. A. — 1947 — Esquistosomíase mansoni. *Arq. Fac. Hig. São Paulo* 1: 1-146.
- MOURA, S. A. L. — 1945 — Schistosomose mansoni autóctone em Santos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 5: 279-311.
- PINTO, C. — 1945 — Sobre um foco de esquistosomíase mansoni em cultura de agrião (*Nasturtium officinale*) na cidade de Santos. *Rev. Bras. Medicina* 2: 820-823.

INVESTIGAÇÕES SOBRE O EXAME MICROSCÓPI- CO DE ALGUMAS SUBSTÂNCIAS ALIMENTÍCIAS.*

J. B. FERRAZ DE MENEZES JUNIOR

Do Instituto "Adolfo Lutz"

Publicando o presente trabalho não temos em mira senão o desejo de facilitar, aos que se dedicam à Microscopia Alimentar, o estudo e a identificação microscópica de algumas substâncias alimentícias.

A literatura especializada é encontrada em idiomas francês, inglês e alemão, não se tendo conhecimento da existência, em nosso vernáculo, de compêndio destinado a êste ramo da Bromatologia. São conhecidos excelentes trabalhos publicados em revistas científicas nacionais, e algumas monografias de plantas usadas como alimento, porém, em sua maioria, dedicados mais ao estudo químico e à cultura, do que à microscopia.

Sendo vasta a quantidade de substâncias alimentícias, êste trabalho não comportará senão limitado número delas. Estudaremos os cereais, os amiláceos de que se compõem as principais farinhas e féculas, os frutos mais usados na confecção de doces, alguns condimentos e, também, vegetais utilizados no preparo de bebidas estimulantes. Pretendemos, entretanto, na medida de nossas forças, fazer mais algumas publicações sobre o assunto, quando abordaremos as técnicas para a preparação da amostra e as diversas operações por que esta deverá passar antes de ser observada ao microscópio.

Por meio do desenho, reunimos, no presente trabalho, em um só campo microscópico, os elementos histológicos típicos e essenciais de cada substância estudada e fazemos a descrição da respectiva estrutura com os esclarecimentos necessários à compreensão de certos detalhes. Preferimos o desenho pelo motivo de poder agrupar,

Recebido para publicação em julho de 1949.

(*) Êste trabalho, salvo ligeiras alterações, foi apresentado e aprovado em Sessão da 1a. Jornada de Bromatologia, em S. Paulo, em 1946.

cada um, maior número de elementos, o que não seria facilmente obtido por meio de microfotografias.

Na identificação microscópica dos produtos alimentícios surgem vários fatores que oferecem sérias dificuldades a vencer: as substâncias de que se compõem os produtos apresentam-se geralmente pulverizadas ou em partículas tão pequenas que não permitem fazer-se cortes histológicos, sendo somente possível a sua observação de superfície; outras vêzes, estão de mistura com diversas outras substâncias que precisam ser separadas e também identificadas; podem, ainda, mostrar-se fortemente pigmentadas, necessitando descoramento, ou alteradas pela ação do calor ou de outros agentes que modificam profundamente sua estrutura. Esta estrutura, característica para cada espécie vegetal, fornece inúmeros recursos no reconhecimento microscópico das substâncias alimentícias. Por êste motivo, podemos assegurar se um produto submetido a exame é puro ou está contaminado com microrganismos, ou adulterado com substâncias estranhas constituindo uma fraude que deve ser punida.

Assim sendo, fácil será reconhecer-se o inestimável valor do exame microscópico nas análises bromatológicas, cuja contribuição se torna indispensável em muitas determinações.

Conforme a natureza do produto, uma técnica especial deverá ser adotada, a fim de se conseguir que a amostra esteja em condições de fornecer preparações convenientes, perfeitas e elucidativas.

Para certos produtos, principalmente quando de composição desconhecida, não há uma técnica aconselhada; neste caso é de grande valor a iniciativa do analista, procurando, por meio de tentativas insistentes e adequadas, orientar a marcha das operações para uma conclusão satisfatória.

São as seguintes as operações que precedem a preparação da lâmina:

1.º) — Lavagem do material com água destilada para desembaraçá-lo de ingredientes como o açúcar e o sal, que prejudicam não só as reações químicas indicadas, como a perfeita nitidez do campo microscópico.

2.º) — Descoramento por meio da solução de hipoclorito de sódio, do hidrato de cloral, do cloro nascente, da solução de hidróxido de sódio ou de potássio, aplicável às substâncias muito coradas, às folhas coriáceas (mate, louro), às cascas de muitos frutos (pimenta do reino, da Jamaica, cereais), à canela, cravo da Índia, etc.

3.º) — Tratamento pelo álcool, éter, benzina, clorofórmio, acetona e solventes especiais, para retirar gorduras, óleos essenciais, resina, clorofila, etc; pela glicerina, para hidratar; pelo óleo vegetal ou mineral para diafanizar o amido, facilitar a observação microscópica de cristais de ácidos graxos e permitir que se façam preparações de substâncias solúveis em água ou em outros solventes.

4.º) — Pesquisa à lupa, que é feita colocando-se o material em placa de Petri, dissociado em pequena porção de água, para em seguida, com o auxílio de uma agulha de platina de ponta achatada, serem colhidas as partículas que, pelo seu aspecto, possam ser as procuradas, ou outras suspeitas de constituir fraude. A adição, à placa, de algumas gotas de solução iodo-iodetada (lugol) auxilia de modo particular a colheita ou “pesca” de diferentes partículas, principalmente quando constituídas por parênquima amilífero.

5.º) — Cortes histológicos, obtidos com o auxílio do micrótomo ou ainda, a mão, por meio de navalha. Estes cortes devem ser finos, de 5 a 10 micra * de espessura e serão montados entre lâmina e lamínula, com uma gota de água destilada.

O corte histológico é feito em substâncias muito espessas, nas quais o simples exame microscópico de superfície se torna impraticável, por falta de transparência, ou ainda quando a identificação é baseada exclusivamente no arranjo típico das células dos tecidos das mesmas. Neste caso é imprescindível, como por exemplo na folha do chá (*Thea sinensis*), cujas células pétreas (escleritos), atravessando perpendicularmente o mesófilo, constituem recurso imediato para o seu diagnóstico.

6.º) — Reativos e corantes. São numerosos os reativos usados em Microscopia Alimentar, todos eles baseados em reações específicas que transformam o aspecto e a composição química da substância analisada. Os mais comuns são os ácidos (sulfúrico, clorídrico, nítrico, acético, tânico, pítrico e fênico); os álcalis; o perclorato de ferro e reativos especiais como o de Fehling, de Millon, etc. Os corantes são usados com o fim de tornar mais visíveis e diferenciados, ao microscópio, os tecidos vegetais e as leveduras, bacilos, micélios e esporos de cogumelo, nos diversos métodos de contagem microscópica de microrganismos.

Muitas outras operações poderão ser feitas, havendo casos em que, para o exame de um mesmo produto, se torna necessário o concurso de vários desses meios, dada a complexidade da mistura.

(*) *micra* é o plural de *micon*, palavra grega, que significa um milésimo de milímetro (0,000001) e é representada pelo símbolo μ .

A preparação da lâmina, de um modo geral, é feita colocando-se a substância a examinar sobre uma gota de água, cobrindo-se em seguida com uma lamínula. A observação microscópica se faz, logo após, com pequeno e grande aumentos (100 e 400x), identificando-se cada elemento pelos seus caracteres morfohistológicos típicos.

Certos elementos apresentam estreita semelhança uns com os outros, como por exemplo os blocos de células pétreas da pêra (*Pyrus communis*) e do marmelo (*Pyrus cydonia*); as células amilíferas da banana da terra (*Musa paradisiaca*) e as da batata doce (*Ipomoea batatas*), quando cozidas; as células amilíferas do tomate (*Solanum lycopersicum*) e as da abóbora (*Cucurbita pepo*).

Entretanto estas dificuldades podem ser afastadas, desde que o analista conheça certos detalhes diferenciais apresentados pela estrutura de cada uma destas substâncias. Nos casos acima referidos, podemos notar que as células pétreas da pêra são mais alongadas, menos arredondadas e de lume menor que as do marmelo, observando-se ainda que as células radiais amilíferas dêste são mais longas e estreitas que as daquela; a presença de células pétreas isoladas no campo microscópico, a ausência de tricomas unicelulares longos e o reconhecimento de manchas esféricas par-dacentas, inseridas profundamente na casca, são elementos de grande valor na diagnose da pêra.

A batata doce cozida tem células mais ou menos quadrangulares, de paredes finas, ao passo que as da banana apresentam paredes grossas e são ligeiramente arredondadas ou alongadas. Quando, por qualquer motivo, as características apresentadas não sejam suficientemente elucidativas, recorre-se à morfologia dos vasos que esclarece com rapidez a identidade de ambas. Os vasos da banana são espiralóides ou espiro-reticulados e vêm acompanhados de ambos os lados por células de côr vermelho-alaranjada, ricas em tanino, com o aspecto de salsichas, ao passo que os da batata doce são pontoados ou reticulados.

A abóbora madura possui células amilíferas pequenas, arredondadas, com pigmentação amarelo-alaranjada, apresentando-se algumas aparentemente vazias e outras exibindo somente raros grãos de amido, morfológicamente deformados; os ductos são espiralóides, quase sempre isolados e muito grandes. As células do mesocarpo do tomate são muito maiores (de 2 a 4 vezes), irregulares, em forma de saco, elipsóides, com pigmentação vermelho-alaranjada, notando-se em algumas, grãos de amido que diminuem de

quantidade proporcionalmente à maturação do fruto. Os ductos são estreitos, longos e espiralóides, formando feixes geralmente com ligeiras interrupções, quase sempre contornados por pequenas células e mucilagem.

Numerosos são os casos de semelhança histológica, porém sempre existe uma particularidade anatômica diferencial e esclarecedora. Para isto, necessário se faz um estudo sistemático da histologia vegetal, seguido de constante exercício comparativo, por parte do analista.

Daremos, a seguir, a descrição da estrutura microscópica das diversas substâncias alimentícias estudadas, correspondente aos respectivos desenhos.

CEREAIS

Elementos histológicos dos envoltórios (casca).

TRIGO (*Triticum vulgare* Vill.)

GRAMÍNEAS

É oriundo da Ásia e cultivado em quase tôdas as regiões do globo, principalmente as de clima temperado. Conhecem-se hoje, aproximadamente, 1700 variedades ou raças. Dividem-se em 3 grupos: trigos duros, semi-duros e moles.

Utilizado no fabrico do pão, massas alimentícias, doces, produtos industriais e de arte.

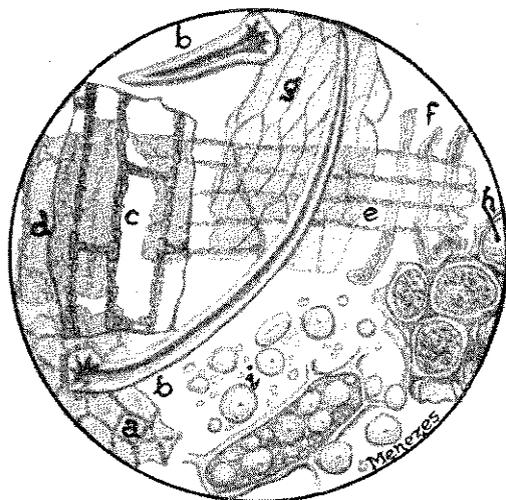


Fig. 1 — TRIGO (aumento: 200 x)

Estrutura microscópica — a) epicarpo de células porosas, poligonais, de paredes grossas e nodosas; b) pêlos curtos e longos, de paredes mais grossas que o lume, possuindo na extremidade básica da cavidade axial, de forma trapezóide, arestas obtusas e pontoadas; c) epiderme interna sôbre o grão; d) hipoderma; e) células transversais; f) células utriculares; g) espermoderma, de células transversais de paredes finas; h) células de glúten de 32 μ de largura por 70 μ de comprimento; i) célula do parênquima amilífero e grãos de amido isolados.

Composição química % da farinha de trigo: Água 13,20; amido e dextrina 65,98; protídios 12,73; lipídios 1,87; açúcares 1,92; sais minerais 1,45 e celulose 2,85. A acidez não deve exigir mais de 2 ml de soluto alcalino para neutralizar. Vitaminas A, B₁, B₂ e E. Lecitina, ácido nucleínico, fitina e enzimas (amílase, fitase, protéase, lipase, máltase, tirosinase, peroxidase e oxalase).

AVEIA (*Avena sativa* L.)

GRAMÍNEAS

Parece ser originária da Europa Central. Cultivada em diversas regiões do globo, onde são conhecidas algumas espécies e variedades. É apreciada como um ótimo alimento e também como medicamento. A aveia laminada do comércio contém, aproximadamente, 70% do grão e 30% da palha proveniente dos envóltorios.

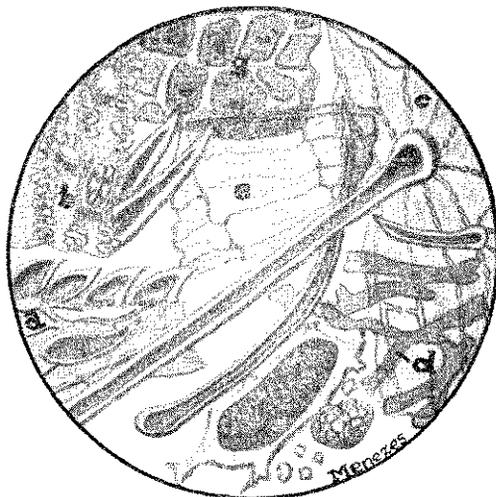


Fig. 2 — AVEIA (aumento: 200 x)

Estrutura microscópica — a, b) epiderme dos envoltórios; c) epicarpo de células porosas, finas, alongadas longitudinalmente com pêlos longos e curtos, de lume pouco estreito, uniforme em seu trajeto até a base arredondada da cavidade axial; d) parênquima esponjoso do mesocarpo, de células longas, de paredes estreitas, ramosas e entrelaçadas, semelhantes a células utriculares; e) espermoderma de paredes finas, retangulares; f) célula amilífera, grãos de amido isolados e agrupados (grãos compostos); g) células de glúten com esférulas albuminóides muito pequenas.

Composição química — A aveia integral encerra, em média %: água 12,00; substância azotada 10,05; matéria graxa 5,63; açúcares 1,95; amido e dextrina 55,97; celulose 11,70; sais minerais 1,90.

A acidez não deve exigir mais de 5 ml de soluto alcalino para neutralizar 100g de produto.

Vitaminas A, B₁, B₂ e E. Aminoácidos, fitina e enzimas (amílase, protéase e lípase).

CENTEIO (*Secale cereale* L.)

GRAMÍNEAS

Muito cultivado na Europa Central, parecendo ser originário da ilha de Creta.

É utilizado no fabrico do pão e como medicamento.

Quando infestado pelo cogumelo *Claviceps purpurea*, o grão de centeio escurece e aumenta de volume, produzindo o esporão de centeio, que fornece a ergotina. A presença da ergotina nas farinhas de centeio constitui um perigo para a alimentação, por ser tóxica, devendo, por êste motivo, ser pesquisada nas análises bromatológicas.

Estrutura microscópica — a) epicarpo de paredes finas, isodiamétricas, menos porosas que as do trigo, apresentando pêlos curtos e longos, de lume bastante largo em tôda sua extensão, menos na cavidade axial arredondada, onde possuem algumas ranhuras; b) hipoderma de paredes semelhantes às do epicarpo,

alongadas e retangulares; c) células transversais típicas, de paredes grossas e porosas; d) células utriculares; e) célula amilífera e grãos de amido; f) células de glúten, menores que as do trigo.

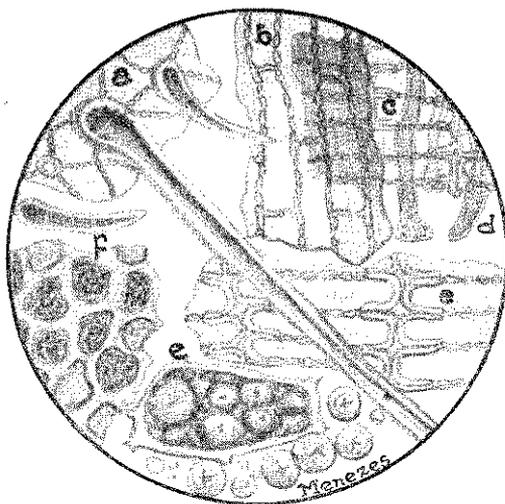


FIG. 3 — CENTEIO (aumento: 200 x)

Composição química — centeio integral: Água 13,09; amido e dextrina 68,73; protídios 11,50; lipídios 1,77; açúcares 1,25; sais minerais 1,72; celulose 1,92. A acidez não deverá exigir mais de 5 ml de soluto normal alcalino para 100 g do produto. Vitaminas B₁, B₂ e P.P.

Lecitina, fitina, ácido nucleínico e enzimas (máltase, protéase).

CEVADA (*Hordeum sativum* Jess.)

GRAMINEAS

É originária da Ásia Central e cultivada no Egito, na Europa e nos Estados-Unidos, sendo diferentes os tipos de cevada de cada país. São várias as espécies existentes e inúmeras as variedades cultivadas.

Tem grande aplicação na indústria, principalmente do malte e da cerveja; é utilizada, torrada, como sucedânea do café e é empregada como medicamento.



FIG. 4 — CEVADA (aumento: 200 x)

Estrutura microscópica — a, b) epidermes externa e interna das glumas; c) epicarpo com células de paredes lisas, formando rosetas em volta dos pêlos; êstes são semelhantes uns aos do trigo, com lume mais estreito que as paredes, e outros aos do centeio, de lume mais largo; são mais curtos que êstes últimos, porém ligeiramente achatados na base; d) hipoderma de células grandes, de paredes em forma de contas, retangulares; e) células transversais, de paredes lisas, isodiamétricas, alongadas transversalmente, formando fileiras; f) células utriculares; g) células de glúten; h) célula amilífera e grãos de amido isolados.

Composição química % — cevada em grão: Água 13,23; protídios 11,64; lipídios 1,95; açúcares 1,77; amido e dextrina 64,20; celulose 5,16; sais minerais 2,05. Vitaminas A, B₁ etc. Lecitina, fitina, ácido nucleínico, hordenina (produto de decomposição da proteína) e enzimas (protéase, peptidase, amilase, máltase, pentosase e catalase).

ARROZ (*Oryza sativa* L.)
GRAMÍNEAS

Originário da Ásia. É cultivado em várias partes do globo e faz parte da alimentação de mais da metade de sua população.

Vários os tipos conhecidos. Em nossas terras são cultivadas as seguintes variedades: Agulha, Dourado, Douradinho, Catete, Japonês e Matão. O arroz é largamente utilizado na indústria de álcool, de bebidas (Sakê), de doces, de perfumarias e outras.

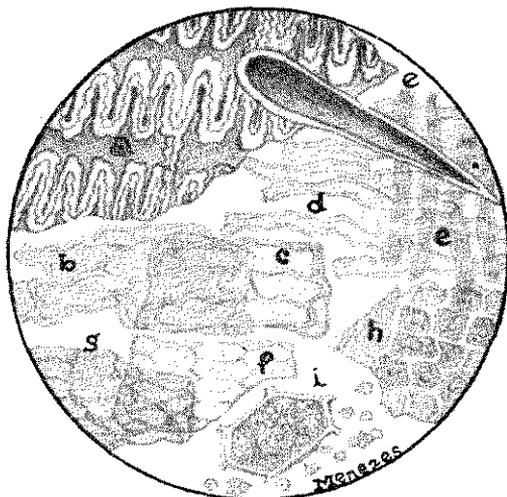


FIG. 5 — ARROZ (aumento: 200 x)

Estrutura microscópica — a) epiderme da casca (palet), de células acentuadamente sinuosas, de paredes grossas, quase retangulares, formando fileiras longitudinais, interseptadas por pêlos duros e retos, de lume bem aberto; b) epicarpo com células longitudinais, visivelmente onduladas; c) hipoderma também de células longitudinais, de paredes quase retas; d) células transversais; e) células utriculares, vermiformes, entrelaçadas; f) espermoderma, de células de paredes finas, alongadas longitudinalmente; g) perisperma, de células semelhantes às do espermoderma, porém de paredes em forma de contas; h) células de glúten; i) célula amilífera e grãos de amido isolados e agrupados.

Composição química % — farinha: Água 12,96; protídios 8,26; lipídios 0,75; amido e dextrina 76,12; açúcares 0,08; celulose 0,83; sais minerais 1,0. A acidez não deverá exigir mais de 3 ml de soluto normal alcalino para 100 g do produto. Vitaminas: B₁ e outros membros do complexo B. Lecitina, fitina e enzimas (protéase e catalase).

MILHO (*Zea mays* L.)

GRAMÍNEAS

É a planta originária da América, onde os aborígenes já a cultivavam antes da chegada do homem branco.

São conhecidas diversas espécies e variedades.

Depois do trigo é o mais importante dos cereais.

As variedades se dividem em dois grupos: moles e duras, de ciclos vegetativos diferentes, sendo as mais cultivadas entre nós as seguintes: Amarelão, Dente de cavalo, "Gold-dent", Catete, Cristal, Assis Brasil, Santa Rosa, Amparo, "Kickory king", Quarentão e Quarentinho. Podem ser de côr vermelha, amarela ou branca.

O milho é usado pelo povo como alimento sob várias modalidades, empregando o amido, o fubá, a canjica, a farinha ou o milho verde.

Tem grande aplicação industrial (indústria de amido, de farinhas, de dextrina, de glicose, de álcool, de produtos alimentícios diversos, de doces, de óleo, de produtos farmacêuticos, de artigos de arte, etc.)

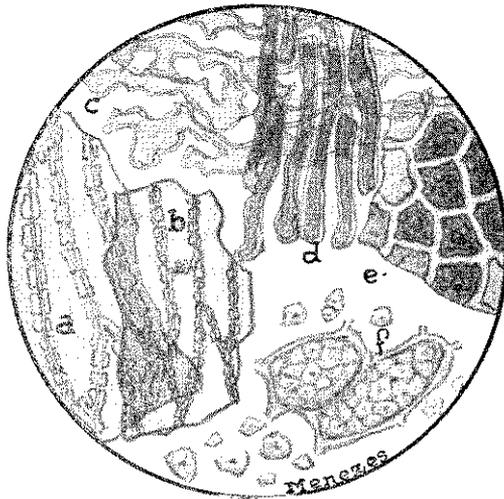


FIG. 6 — MILHO (aumento: 200 x)

Estrutura microscópica — a) epicarpo de células alongadas, retangulares, de paredes francamente porosas; b) hipoderma, de células idênticas, porém menores; c) células transversais entrelaçadas, semelhantes às do arroz e da aveia, porém ramosas e anas-

tomosadas; d) células utriculares; e) células de glúten; f) parênquima amilífero e grãos de amido isolados.

Composição química — fubá: Água 13,28; amido e dextrina 66,34; protídios 9,78; lipídios 4,73; açúcares 2,87; celulose 1,75; sais minerais 1,25. A acidez não deverá exigir mais de 5 ml de soluto normal alcalino para 100 g do produto. Vitaminas: A, B₁, B₂ e E. Aminoácidos, fitina, pigmentos (flavona, antocianina) e enzimas (amílase, protéase, lípase e peroxidase).

AMIDOS E FÉCULAS

Dá-se, geralmente, o nome de amido à substância amilífera extraída de sementes e o de fécula à proveniente de órgãos vegetais subterrâneos. É a reserva nutritiva mais comumente encontrada nos diversos órgãos vegetais.

AMIDOS DIVERSOS

Trataremos, aqui, sòmente dos grãos de amido dos cereais e de algumas féculas mais comumente examinadas. Muitos outros tipos de amido serão descritos ao ser feito o estudo do respecti-

TRIGO (*Triticum vulgare* Vill.)

GRAMÍNEAS

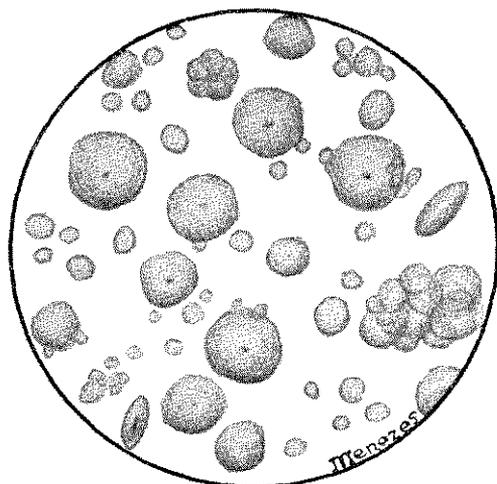


FIG. 7 — AMIDO DE TRIGO
(aumento: 400 x)

vo órgão vegetal, utilizado nas diversas modalidades de produtos alimentícios.

Os amidos de trigo, centeio, cevada e aveia não são preparados para fins alimentares e sim as suas farinhas.

Os grãos de amido do trigo são lenticulares vistos de frente e elípticos ou biconvexos vistos de lado. Possuem estrias concêntricas muito pouco visíveis e hilo pontoado, em raros grãos. Os grãos menores têm forma globular ou ligeiramente poligonal. Em média medem de 20 a 30 μ de diâmetro, podendo atingir 40 μ . À luz polarizada apresentam uma cruz pouco nítida.

CEVADA (*Hordeum sativum* Jess.)

GRAMÍNEAS

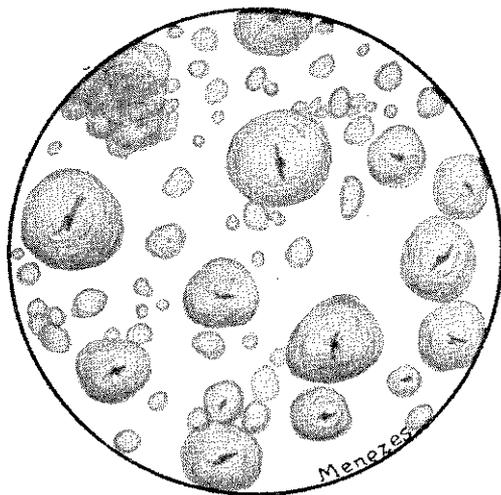


FIG. 8 — AMIDO DE CEVADA
(aumento: 400 x)

É amido discóide, semelhante ao do trigo e de contorno menos regular. Tem hilo bem visível, linear, e algumas vezes pontoado. As estrias, concêntricas, são mais visíveis que as do trigo.

Seu diâmetro mede, em média, 30 μ . É bem aparente a cruz que lhe oferece o campo escuro da luz polarizada.

CENTEIO (*Secale cereale* L.)

GRAMÍNEAS

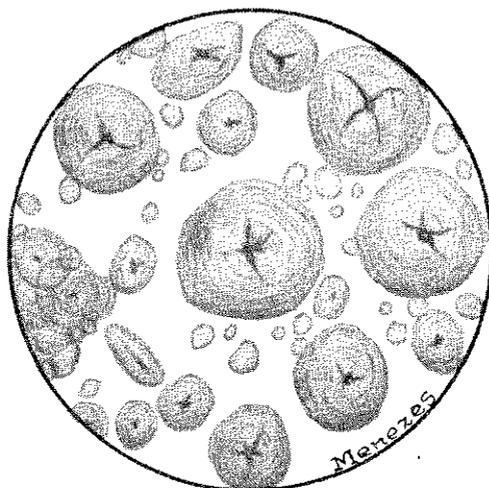


FIG. 9 — AMIDO DE CENTEIO
(aumento: 400 x)

Grãos lenticulares, menos arredondados que os da cevada e de contôrno irregular; alguns quase piriformes. As estrias, concêntricas, são distintamente visíveis; o hilo é estrelado, apresentando 3, 4 e 5 raios ou sulcos bem marcados.

São maiores que os do trigo, alcançam comumente 50 μ , aparecendo alguns com diâmetros menores. A cruz é bem visível em campo escuro.

MILHO (*Zea mays* L.)

GRAMÍNEAS

É um dos amidos mais utilizados na confecção de doces, cremes, bolos, etc, e, por êste motivo, fabricado industrialmente em larga escala.

Sensivelmente poliédricos quando procedentes da parte externa da semente, os grãos são ligeiramente abaulados. Os da zona central branca são quase esféricos e bem menores. Hilo pontado, emitindo prolongamentos curtos em forma de estrêla. Estrias raramente visíveis. Não se apresentam agrupados em grãos compostos. Medem geralmente 30 μ . À luz polarizada apresentam cruz bem visível, tanto no campo escuro, como no claro.

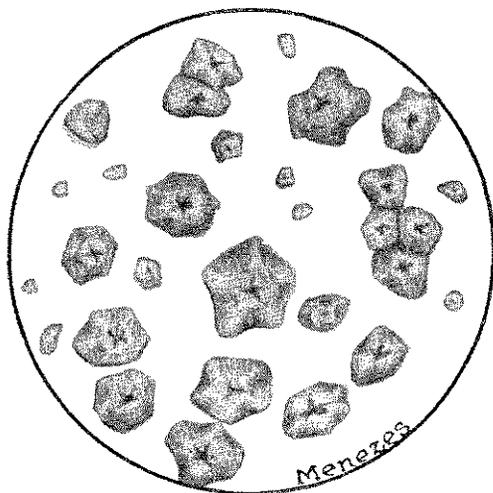


FIG. 10 — AMIDO DE MILHO
(aumento: 400 x)

Composição química — O amido de milho deve conter no mínimo 80% de glicídios não redutores avaliados em amido; no máximo 15% de umidade; acidez que não exija mais de 2 ml de soluto normal alcalino para 100 g do produto e 1% de resíduo mineral fixo.

AVEIA (*Avena sativa* L.)
GRAMÍNEAS

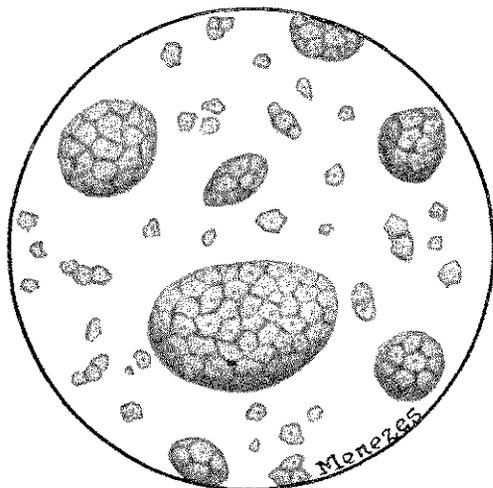


FIG. 11 — AMIDO DE AVEIA
(aumento: 400 x)

Grãos nitidamente poligonais e se apresentam agregados, formando grandes grãos compostos, típicos, arredondados. Hilo pontado, pouco perceptível. Não apresentam estrias. Têm, em média, 5 μ , podendo atingir 10 μ . Os grãos compostos variam de 40 a 70 μ . Polarização distinta.

ARROZ (*Oryza sativa* L.)
GRAMÍNEAS

O amido de arroz tem grande aplicação na dietética infantil. É usado como medicamento (antidiarréico e emoliente) e ainda no preparo de doces, bolos, biscoitos, etc.

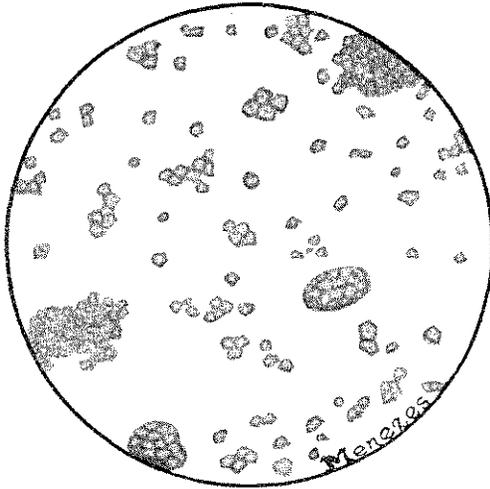


FIG. 12 — AMIDO DE ARROZ
(aumento: 400 x)

Grãos semelhantes aos da aveia, poligonais, menores, hilo central pontado; não apresentam estrias. Variam em tamanho de 2 a 8 μ , podendo chegar a 10 μ . Os grãos compostos que se notam nas células amilíferas raramente são encontrados no produto manufaturado. No campo microscópico são vistos pequenos blocos ou agregados irregulares que não devem ser confundidos com grãos compostos. Cruz bem visível à luz polarizada.

Composição química — O amido de arroz deve conter no mínimo 80% de glicídios não redutores avaliados em amido; no máximo 15% de umidade; 1% de resíduo mineral fixo; acidez que

não exija mais de 2 ml de soluto normal alcalino para 100 g do produto.

BATATA (batatinha) (*Solanum tuberosum* L.)

SOLANÁCEAS

Planta originária do Peru e cultivada nos países tropicais. Há numerosas variedades e raças.

É uma fécula de grande consumo na Europa e pouco usada em nosso país, como alimento (bolos, biscoitos, etc.). É usada no fabrico de glicose e dextrina, nas artes e como medicamento (emoliente e nas dermatoses).

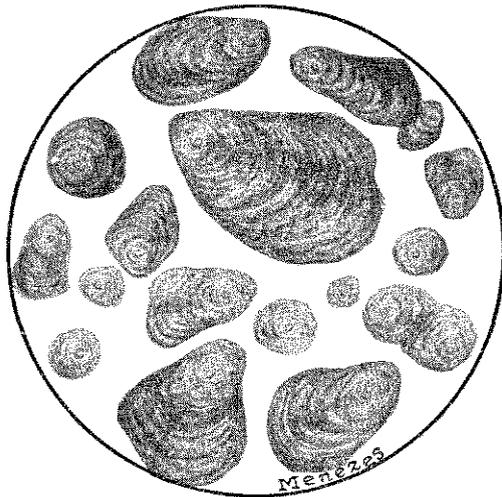


FIG. 13 — FECULA DE BATATA
(aumento: 400 x)

A fécula é constituída por grandes grãos elipsóides, ovais, piriformes, arredondados, denteados e truncados. O hilo é pontuado e se implanta na extremidade mais estreita do grão. O sistema estriado é excêntrico, sendo notadas, alternadamente, camadas mais e menos profundas. Os grãos arredondados são menores, de 6 a 15 μ e aparecem às vezes agrupados em 2 ou mais elementos; os ovóides são maiores, variam de 40 a 70 μ , podendo alcançar até 100 μ . À luz polarizada mostram uma cruz negra muito distinta.

Composição química — A fécula de batata deve conter no mínimo 80% de glicídios não redutores avaliados em amido; no máximo 15% de umidade e 1% de resíduo mineral fixo.

A acidez não deverá exigir mais de 2 ml de soluto normal alcalino para 100 g do produto. O tubérculo contém: aminoácidos, ácido oxálico, pectina, solanina, fitina e enzimas (amílase, oxidase, catalase, etc.).

BATATA DOCE (*Ipomoea batatas* Lam.)
CONVOLVULÁCEAS

Parece ser originária da América tropical. Há vários tipos e variedades (sêca, amarela, roxa, rosa, etc.)

A fécula é utilizada, entre nós, na confecção de doces e é também exportada. É considerada erradamente como "araruta do Brasil".

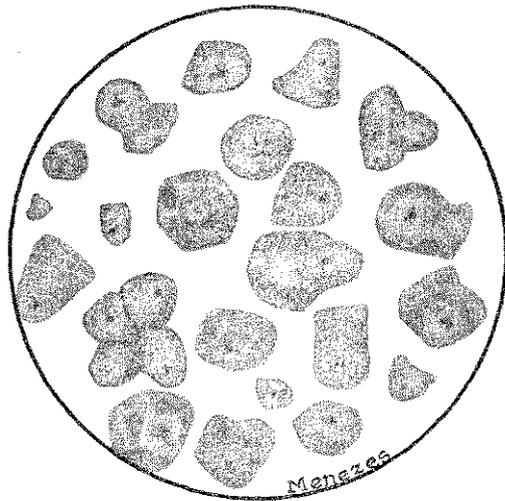


FIG. 14 — FÉCULA DE BATATA DOCE
(aumento: 400 x)

Consta de grãos semelhantes aos da mandioca. Alguns são esféricos, irregulares, outros quase poliédricos, redondos, truncados uma ou várias vezes, apresentando maior número de formas do que os da mandioca. O hilo é pontado ou estrelado e está implantado quase na extremidade do grão. As estrias não são muito acentuadas. Os grãos menores, redondos, agrupam-se às vezes em 3 ou 4 elementos. Medem de 2 a 30 μ , atingindo até 50 μ , raramente. Polarização bem visível.

Composição química — A fécula de batata doce deve conter no mínimo 80% de glicídios não redutores avaliados em amido; no máximo 15% de umidade; acidez que não exija mais de 2 ml. de soluto normal alcalino para 100 g do produto e 1% de resíduo mineral fixo.

O tubérculo contém: ácido oxálico, lecitina, fitina e enzimas (amílase, catalase, lacase e peroxidase).

MANDIOCA (*Manihot utilissima* Pohl)

EUFORBIÁCEAS

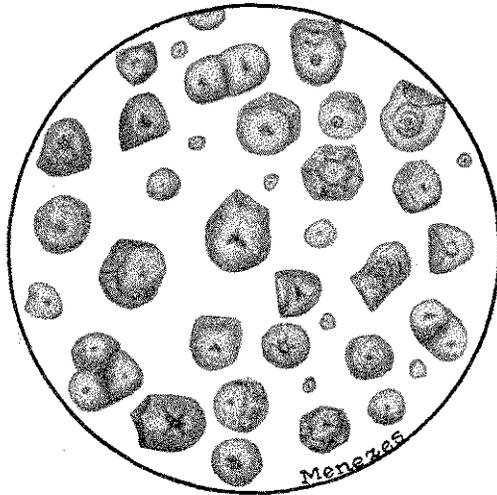


FIG. 15 — FÉCULA DE MANDIOCA
(aumento: 400 x)

A mandioca é uma das plantas mais cultivadas no Brasil e um dos alimentos mais apreciados de tôdas as classes sociais, pelas várias modalidades de pratos que oferece.

É utilizada industrialmente na manufatura de farinhas, raspas, polvilho, goma, glicose, dextrina e muitos outros produtos. Com ela é fabricado o "Sagu de mandioca", semelhante ao produto granulado obtido com a fécula da medula das palmeiras: *Metroxylon Rumphii* Mart., *Cycas revoluta* L. e outras.

É também considerada "araruta do Brasil".

Existem duas espécies pertencentes ao mesmo gênero *Manihot*: *M. utilissima* Pohl (mandioca amarga ou brava) e *M. aipi* Pohl (mandioca doce ou mansa). As variedades do grupo "amarga" são utilizadas para fins industriais, por serem mais ricas em fécula, enquanto que as do grupo "doce" são destinadas ao consumo alimentar. As variedades mais cultivadas entre nós são: a Cambaia, a Mandi, a Mala-fome e a Vassourinha.

Os grãos da fécula são esféricos ou irregularmente arredondados, em forma de dedal, de esferas truncadas em uma ou várias facetas e variam de 25 a 35 μ de diâmetro. Hilo pontoadado, linear ou estrelado, ocupando geralmente o centro do grão. Tanto os grandes como os pequenos grãos formam agregados de 2 a 3 elementos. As estrias são vagamente observadas. Cruz do amido perfeitamente notada.

Composição química — A fécula de mandioca deve conter no mínimo 80% de glicídios não redutores avaliados em amido; no máximo 15% de umidade; acidez que não exija mais de 2 ml de soluto normal alcalino para 100 g do produto e 1% de resíduo mineral fixo.

A mandioca amarga contém 0,077% e a doce 0,016% de ácido cianídrico, o qual desaparece pela fermentação, pela exposição ao sol e pelo aquecimento.

ARARUTA (*Maranta arundinacea* L.)

MARANTÁCEAS

É planta genuinamente brasileira, porém difundida e cultivada em várias partes do globo, onde são utilizadas outras "arrow-roots", como as de Malabar (*Curcuma sp.*), de Taití (*Tacca pinnatifida*), de Tolomane (*Canna sp.*) etc.

Entre nós é conhecida em todos os Estados, porém cultivada somente no sul, assim mesmo em pequena escala.

A fécula costuma ser falsificada e substituída, comercialmente, pela da mandioca.

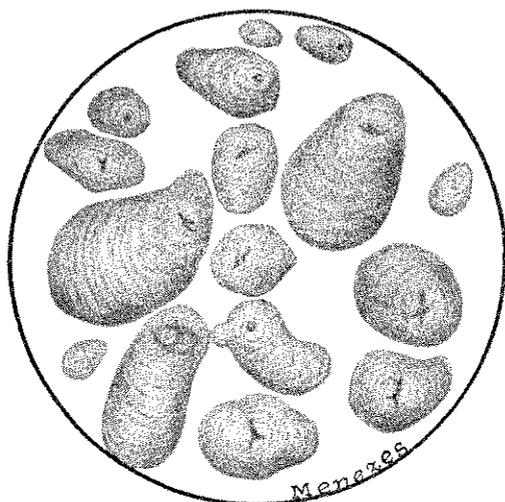


FIG. 16 — FÉCULA DE ARARUTA
(aumento: 400 x)

Os grãos da fécula são ovóides, elipsóides, fusiformes, redondo-triangulares, raramente esféricos, apresentando alguns, protuberâncias laterais. O hilo está situado quase sempre na extremidade mais larga do grão; é único, às vezes duplo, pontado, linear ou com dois sulcos pequenos, imitando asa de pássaro. Estrias excêntricas não muito acentuadas. Dá cruz perfeita à luz polarizada.

Composição química — A fécula de araruta deve conter no mínimo 80% de glicídios não redutores avaliados em amido; no máximo 15% de umidade; acidez que não exija mais de 2 ml. de soluto normal alcalino para 100 g do produto e 1% de resíduo mineral fixo.

FALSA ARARUTA (*Maranta ruiziana* Koern)
MARANTÁCEAS

É pouco cultivada e raramente utilizada para fins industriais, sendo vendida no comércio como a legítima araruta (*Maranta arundinacea*).

As formas dos grãos (Fig. 17 (1) aumento: 400 x) muito se aproximam às da mandioca. Os grãos são menores, arredondados, esférico-truncados, triangulares, trapezóides, e de contornos geo-

métricos bem marcados, como cristais — o que falta nos da mandioca. As estrias não são muito acentuadas e o hilo é pontoado, ocupando a parte central do grão. Medem de 10 a 25 μ , alguns atingindo 30 μ .

À luz polarizada mostra uma cruz bem perceptível.

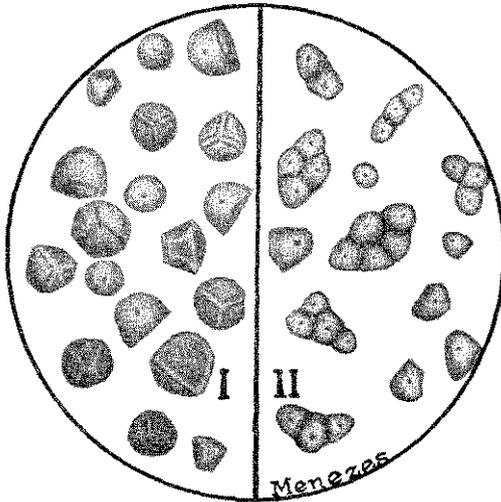


FIG. 17 — (I) FÉCULA DE FALSA ARARUTA
(aumento: 400 x)
(II) AMIDO DE BABAÇU
(aumento: 400 x).

Composição química — Deve conter no mínimo 80% de glicídios não redutores avaliados em amido; no mínimo 15% de umidade; acidez que não exija mais de 2 ml. de soluto normal alcalino para 100 g do produto e 1% de resíduo mineral fixo.

BABAÇU — (*Orbignia martiana* Barb. Rodr.)

PALMÁCEAS

É uma palmeira do Brasil, provinda das Guianas e muito abundante em Mato-Grosso, Goiás, Piauí, Amazonas, Maranhão, Pará e Minas-Gerais.

É utilizado industrialmente para a extração do óleo. A fécula existente no mesocarpo, em grande quantidade (de 63 a 71%), está sendo ultimamente aproveitada e divulgada como alimento, associada a várias farinhas.

Os grãos de amido (Fig. 17 (II) aumento: 400x) apresentam perfeita semelhança com os do cacau. No tamanho são, entretanto, maiores, em forma de dedal, de capacete, de elipse ou de esfera truncada 1, 2 ou 3 vêzes, por onde se ligam intimamente, formando agregados de 2 a 5 elementos.

FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)
LEGUMINOSAS

É alimento de grande consumo em nosso país e em muitos outros do globo.

Industrialmente tem pouca aplicação entre nós. Os japoneses o utilizam na manufatura de doces (Manju).

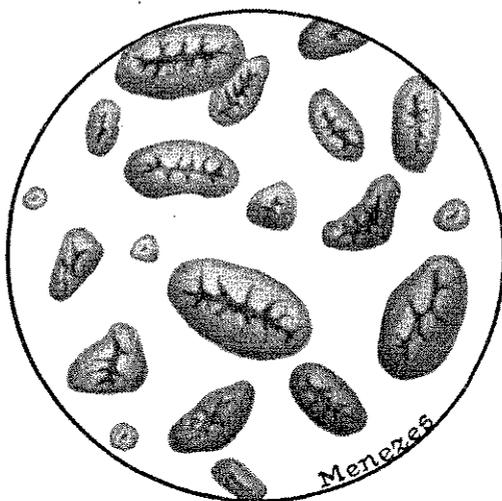


FIG. 18 — AMIDO DE FEIJÃO
(aumento: 400 x)

O amido apresenta-se ao microscópio sob a forma de grandes grãos, riniformes, ovóides, irregularmente cilíndricos ou quase esféricos. O hilo é bem marcado, linear, ocupando quase todo o comprimento do grão e emitindo de um e de outro lado pequenos prolongamentos. As estrias são bem visíveis e à luz polarizada a cruz é bastante acentuada.

FRUTAS E TUBÉRCULOS

(Para compotas e doces em massa)

Elementos histológicos característicos e principais.

BANANA (*Musa sapientum* L. — *Musa paradisiaca* L. — *Musa Cavendishii* Lamb. — *Musa corniculata*)

MUSÁCEAS

Originária da zona quente e úmida do sul da Ásia, foi levada para a África, Europa Meridional e desta para a América, onde os aborígenes não a conheciam por ocasião do seu descobrimento.

A banana é fruto de região tropical e subtropical, motivo por que se adaptou perfeitamente em nossas terras, sendo hoje cultivada em grande escala em nosso país, notadamente em São Paulo, onde sua exportação é considerável.

Há muitas espécies e variedades. São cultivadas no Brasil aproximadamente 30 variedades, pertencentes às 4 espécies supra citadas. As principais são: Nanica, Gros Michel, Marmelo, São Domingos, São Tomé, Ouro, Prata, Maçã, Branca, Roxa, Maranhão, Banana da Terra e Farta Velhaco. É empregada na fabricação de doces caseiros e produtos industriais. Utilizada na adulteração de produtos alimentícios, notadamente doces em massa.

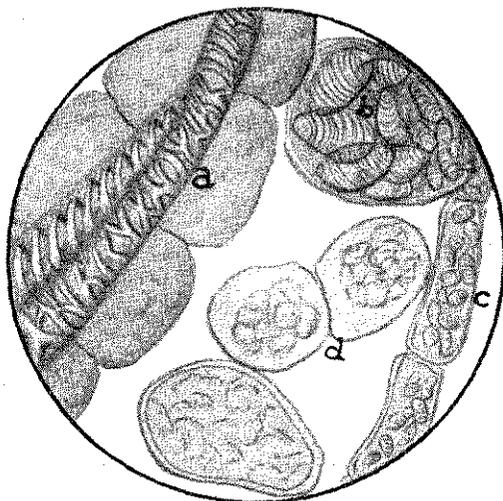


Fig. 19 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE BANANA
(aumento: 400 x)

Estrutura microscópica — a) feixe de vasos espiralóides e espiro-reticulados acompanhados de células de tanino, de côr amarelo-avermelhada, contendo óleo-resina; b) célula amilífera arredondada do fruto fresco da *Musa paradisiaca*, repleta de amido de vários tamanhos; c) células alongadas de banana nanica (*Musa Cavendishii*); d) células amilíferas depois de sofrerem a ação de ligeiro aquecimento, notando-se a alteração do amido.

Os grãos de amido são piriformes, alongados, curvos, em forma de sacó e de salsicha, alguns trazendo protuberâncias laterais. Possuem estrias excêntricas bem visíveis. O hilo é pontado e às vêzes raiado.

Composição química — fruto sem casca: Água, amido, sacarose, açúcar invertido, lipídios, ácido málico, pectina, dextrina, tanino, proteína, pigmentos (xantofila e caroteno), celulose, acetato de amila, enzimas (amílase, sacarose, rafinase, protéase, lípase, peroxidase, fosfatase e carboxilase), fitina e sais minerais. Vitaminas A, B₁, B₂, C e E.

GOIABA (*Psidium guajava* L.)

MIRTÁCEAS

Fruto natural das regiões tropicais das Américas, existindo muitas espécies e variedades, das quais algumas têm por pátria o Brasil.

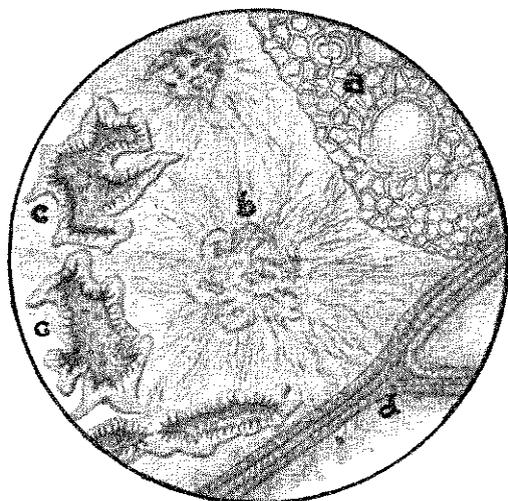


Fig. 20 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE GOIABA
(aumento: 200 x)

Tanto a goiaba vermelha como a branca são largamente usadas na confecção do doce em massa caseiro, da geléia e da compota de goiaba. O fruto é largamente industrializado.

Estrutura microscópica — Fruto cozido: a) epicarpo com células de paredes finas, isodiamétricas, mostrando estômato e cavidades de óleo-resina do hipoderma; b) bloco de células pétreas do mesocarpo envoltas por células de paredes muito finas que, desfeitas pela trituração e pelo calor, apresentam-se como uma nuvem ou cabeleira repleta de granulações e filamentos de côr parda; c) células pétreas, isoladas, grandes e irregulares, de lume bem aberto; d) feixe de ductos espiralóides finos também acompanhados das mesmas células radiais precedentes.

Ausência de amido.

Composição química — Água, proteína, lipídios, ácido cítrico, tanino, glicose, sacarose, pigmentos, óleo essencial, celulose, fitina e sais minerais.

MARMELO (*Pyrus cydonia* L.)
ROSÁCEAS

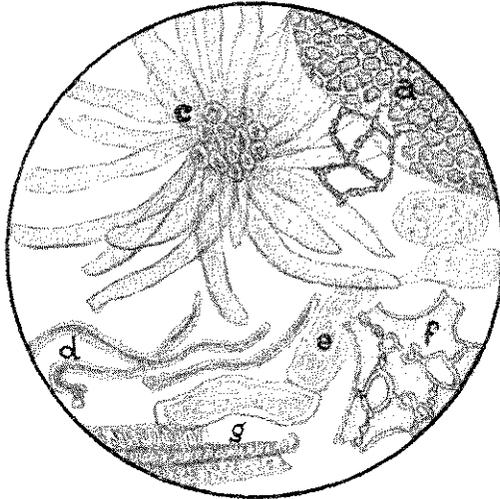


Fig. 21 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE MARMELO
(aumento: 200 x)

É originário da Ásia, cultivado na Europa, nos Estados-Unidos e na América do Sul. Muitas são as variedades conhecidas. No

Brasil há grandes plantações de marmelo destinadas a fins industriais (doce em massa, compota, geléia).

É usado como medicamento adstringente (antidiarréico) e a mucilagem das sementes como veículo de cremes e cosméticos em perfumaria.

Estrutura microscópica — a) epicarpo com células-mães, de paredes grossas, e células-filhas, de paredes finas, mostrando raras manchas de aspecto poroso; b) hipoderma com células poligonais de paredes nodosas e ângulos retilíneos; c) bloco de células pétreas do mesocarpo, contornado por células amilíferas radiadas, formando cabeleira; as células pétreas têm as paredes mais grossas, o lume mais estreito e são mais arredondadas do que as da pêra; as células amilíferas radiadas são mais estreitas e mais longas; d) pêlos unicelulares longos e de paredes finas; e) células do parênquima amilífero, isoladas; f) parênquima esponjoso; g) ductos e esclerênquima.

Composição química — Água, ácido málico, protídios, pectina, tanino, dextrose, levulose, sacarose, óleo essencial e enzimas. As sementes contêm mucilagem, amigdalina (glicósido), emulsina (enzima), óleo fixo, proteína, tanino, etc. Vitaminas: C.

PÊRA (*Pyrus communis* L.)

ROSÁCEAS

A pêra dura é a variedade mais cultivada no Brasil e é a que mais se presta às inúmeras adulterações de produtos alimentícios, notadamente os doces em massa.

Estrutura microscópica — a) epicarpo com células-mães, de paredes grossas, com células-filhas, de paredes finas, raros estômatos e numerosas manchas lenticulares típicas; b) hipoderma com células poligonais, de paredes grossas, nodosas, com ângulos anelados; c) bloco de células pétreas do mesocarpo contornadas por células amilíferas radiadas, formando cabeleira; as células pétreas têm as paredes mais finas, o lume maior e são mais alongadas e poligonais do que as do marmelo; as células amilíferas radiadas são mais largas e mais curtas; d) células do parênquima amilífero

do mesocarpo; e) parede de esclérolas do endocarpo, deixando ver algumas isoladas, que se desprenderam; f) células cristalíferas; g) esclerênquima e ductos espiralóides e pontoados.

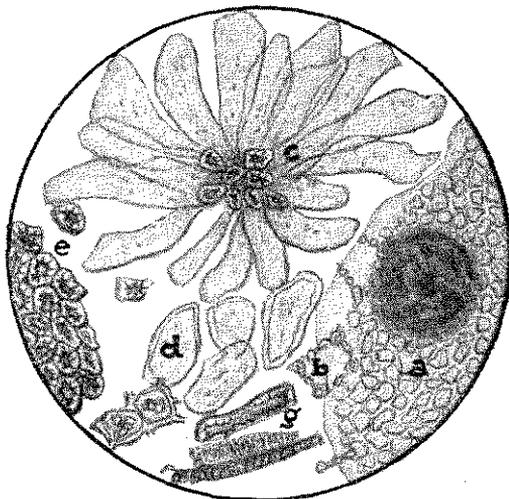


FIG. 22 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE PÊRA
(aumento: 200 x)

Nota — Há grande semelhança entre alguns elementos histológicos do marmelo e da pêra, como se verifica pelos desenhos apresentados; entretanto, uma observação minuciosa e experiente pode diferenciá-los morfológicamente, com facilidade, principalmente procurando identificar os elementos que estão presentes num e ausentes no outro fruto.

Composição química — Água, ácidos málico e cítrico, proteína, tanino, sacarose, açúcar invertido (glicose e levulose), amido, acetaldéido, pectina, enzimas (catalase), sais minerais e celulose. As sementes contêm: proteína, gordura, açúcares, lecitina, amigdalina e celulose. Vitaminas: B₁, B₂, B₆ e C.

PÊSSEGO (*Prunus persica* Sieb. et Zucc.)

ROSÁCEAS

É originário da Ásia. Cultivado na Pérsia, China, Europa, América do Norte e do Sul. Há numerosas espécies e variedades de pêsego, sendo entre nós mais comum o salta-carço, usado no preparo de doces caseiros, em calda e em massa. É utilizado na

indústria de doces em massa; para compotas são usadas outras variedades mais finas.



FIG. 23 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE PÊSSEGO
(aumento: 200 x)

Estrutura microscópica — a) epicarpo com células poligonais, raros estômatos, numerosos tricomas, longos e curtos, de paredes grossas e afilados na base; b) hipoderma de paredes poligonais, nodosas, com espaços intercelulares nos ângulos; c) células do mesocarpo, em forma de saco, contendo cristais em rosetas e em agulhas; d) ductos espiralóides, pontoados e reticulados; e) esclerênquima; f) células pétreas, isodiamétricas e alongadas do endocarpo; g) fibra cristalífera.

Não contém amido.

Composição química — Água, ácidos málico e cítrico, proteínas, tanino, sacarose, açúcar invertido, pectina, óleo essencial, celulose e sais minerais. As sementes contêm: proteínas, óleo fixo, óleo volátil (ácido cianídrico e benzaldeído), amigdalina. Vitaminas A, B₁, B₂ e C.

FIGO (*Ficus carica* L.)
MORÁCEAS

É conhecido desde tempos pré-históricos.

Originário da região mediterrânea, das Canárias à Síria. Cultivado na Índia, Itália, Espanha, Grécia, China, América do Norte e do Sul.

Há muitas espécies e variedades.

Usado no fabrico de doces em calda e em massa. É aplicado em medicina como laxativo.

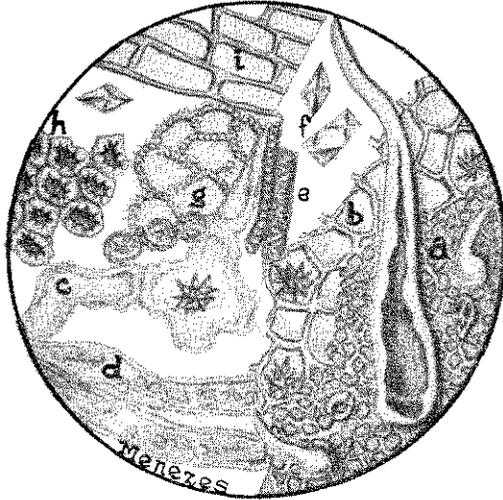


FIG. 24 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE FIGO
(aumento: 400 x)

Estrutura microscópica — Receptáculo (vulgarmente chamado fruto): a) epiderme de paredes grossas, poligonais, estômato saliente, pêlos unicelulares e pluricelulares capitados; b) hipoderma de células redondo-poligonais, com pequenos cristais em rosetas; c) células irregulares do parênquima, com cristais; d) tubos ramosos de látex; e) vaso espiralóide e reticulado; f) cristais de oxalato de cálcio.

Semente (que é o fruto): g) epicarpo de células redondas e mesocarpo de paredes grossas e nodosas; h) bloco de células pétéreas do endocarpo; i) epiderme externa do espermoderma.

Não contém amido na polpa, porém as “sementes” contêm pequena quantidade.

Composição química — Ácidos oxálico, cítrico (málico e acético em algumas variedades), carboidratos, proteína, lipase, diástase, óleo fixo e sais minerais. Vitaminas A, B₁, B₂ e C.

LARANJA (*Citrus Aurantium* Risso)
RUTACEAS

Originária da Ásia, donde passou para a África, regiões quentes do Mediterrâneo, Europa e América.

É apreciada e cultivada em quase todo o território brasileiro. Alguns de nossos Estados (S. Paulo, Rio, Bahia) cultivam-na em grande escala para exportação. Há muitas espécies e variedades.

O fruto é usado no preparo de sucos, refrigerantes, vinho, pectina e óleo essencial. As espécies de casca espessa (*Citrus grandis* Osbeck e principalmente *Citrus vulgaris* Risso-laranja azeda) são utilizadas no fabrico de doces em calda e em massa. A casca da laranja amarga tem aplicações farmacológicas.

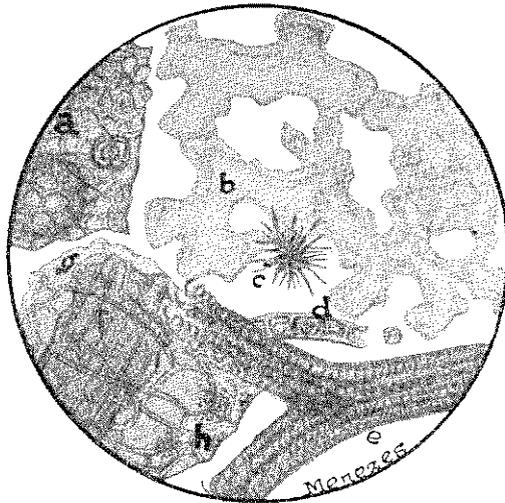


FIG. 25 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE LARANJA
(aumento: 200 x)

Estrutura microscópica — a) epicarpo de células poligonais, pequenas, contendo cromatóforos, estômatos, deixando ver a cavidade de óleo implantada na parte superior do mesocarpo; b) células típicas do parênquima esponjoso do mesocarpo, segmentadas, estreitas, irregularmente contornadas; c) cristal de hesperidina (tratamento pelo álcool); d) célula com cristais de oxalato de cálcio; e) feixe de vasos espiralóides, reticulados e pontoados. Elementos da vesícula: f) epiderme com células alongadas de pa-

redes finas; g) subepiderme de largas células transversalmente alongadas; h) parênquima de paredes finas, contendo cromatóforos.

Composição química — Ácido cítrico, carboidratos, pectina, proteína, hesperidina (glicósido), carotenóide, sais minerais, óleo fixo e essencial (citrinal, limoneno, linalol, etc.). Vitaminas A, B₁, B₂ e C.

CIDRA (*Citrus cedra* Gall.)

RUTÁCEAS

Originária da Índia.

É cultivada no Brasil e muito usada no fabrico de doces.

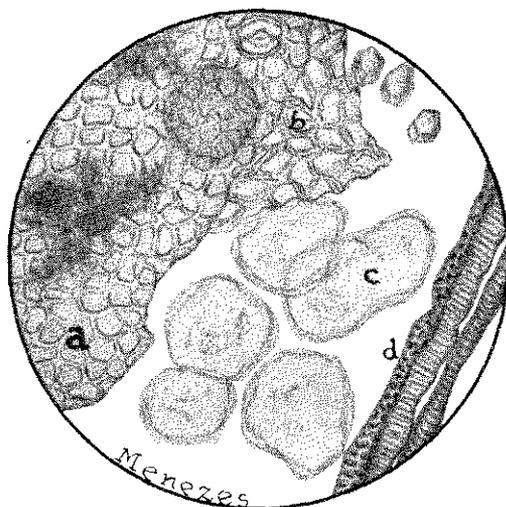


FIG. 26 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE CIDRA
(aumento: 400 x)

Estrutura microscópica — a) epicarpo, de células poligonais um pouco maiores do que as da laranja, contendo cromatóforos, manchas irregulares e deixando ver a cavidade do óleo, implantada no mesocarpo externo; êstes elementos assemelham-se histologicamente aos da laranja e do limão; b) hipoderma de células isodiamétricas, de paredes grossas; c) células do mesocarpo, arredondadas e em forma de saco, diferindo completamente das do parênquima esponjoso da laranja, apesar de serem ambas do mesmo gênero; d) ductos espiralóides, reticulados e pontoados.

Nota — Como as células do mesocarpo da cidra apresentam visível semelhança histológica com as do mesocarpo do mamão (*Carica Papaya* L.) a identificação dêste será facilmente estabelecida pela presença de tubos lactíferos, ausentes na cidra.

Composição química — Muito se aproxima à da laranja.

MANGA (*Mangifera indica* L.)

ANACARDIÁCEAS

É natural da Índia; cultivada desde tempos pré-históricos.

Planta muito cultivada no Brasil, onde são conhecidas muitas variedades. Entre elas citaremos as seguintes: Comum ou Espada, Rosa, "Bourbon", Itamaracá, Coração de boi, etc.

É usada no fabrico de doce em massa.

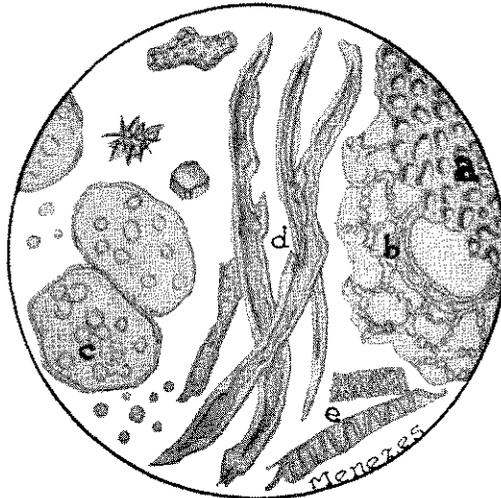


Fig. 27 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE MANGA
(aumento: 200 x)

Estrutura microscópica — a) epicarpo de células pequenas e paredes muito espessas; b) hipoderma, de células largas, de paredes porosas, com a abertura da passagem de óleo-resina; c) células do mesocarpo com cromatóforos e grãos de amido; d) fibras do endocarpo, de paredes finas ou grossas, algumas irregulares e grotescas; e) ductos espiralóides e reticulados; f) célula pétrica; g) cristais de oxalato de cálcio.

Composição química — Água, ácido cítrico, proteína, sacarose, açúcar invertido, óleo fixo, óleo essencial, amido, fitina, caroteno, xantofila, celulose e sais minerais. Vitaminas: A e C.

ABACAXI (*Ananas sativas* Schult.)
BROMELIÁCEAS

A planta é originária do hemisfério ocidental. Há nos Estados-Unidos grandes culturas, bem como em Hawaí e Pôrto-Rico.

É largamente cultivada no Brasil.

O abacaxi, pelo seu aroma agradável e sabor delicioso, é largamente utilizado na confecção de doces, principalmente em compota. Tem grande emprêgo industrial no fabrico de doces, suco, vinho, refresco e sorvete.

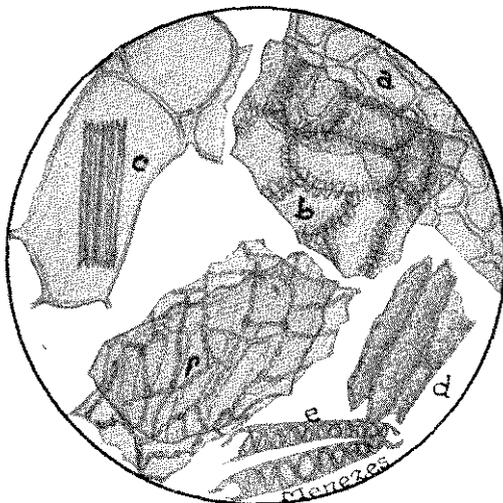


Fig. 28 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE ABACAXI
(aumento: 200 x)

Estrutura microscópica — a) epicarpo com células de paredes onduladas, quadrilaterais; b) hipoderma de células isodiamétricas ou transversalmente alongadas, de paredes muito grossas e porosas; c) células de paredes finas do parênquima do mesocarpo, contendo ráfides de oxalato de cálcio; d) esclerênquima; e) ductos espiralóides; f) endocarpo de células alongadas, de paredes porosas, atravessadas por outras de paredes finas e lisas. Não contém amido.

Composição química — Água, ácidos cítrico e málico, proteína, sacarose, açúcar invertido, óleo essencial, caroteno, xantofila, celulose e sais minerais. Vitaminas: A, B₁, B₂ e C.

BATATA DOCE (*Ipomoea batatas* Lam.)
CONVOLVULÁCEAS

Originária da região tropical da América.

São conhecidos vários tipos e variedades.

É utilizada no fabrico de doces e empregada freqüentemente como adulterante de produtos alimentícios.

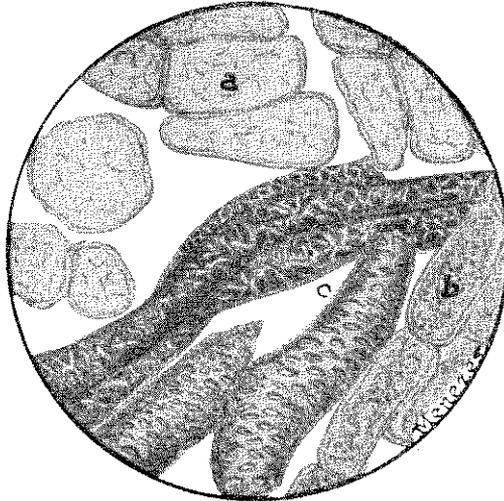


FIG. 29 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE BATATA DOCE
(aumento: 400 x)

Estrutura microscópica — batata doce cozida: a) células do parênquima amilífero, quadrangulares, algumas quase arredondadas, freqüentemente agrupadas em 2, 3 e mais elementos e apresentando reticulações e filamentos arqueados, ligeiramente amarelos, semelhantes a vidro-fantasia; b) células escuras, de látex, radiadas, de conteúdo granuloso e que tomam coloração amarela pelo lugol; c) vasos típicos, grandes, pontoados, com orifícios redondos ou alongados, raras vezes formando reticulações. As células do parênquima amilífero da batata doce cozida muito se assemelham

às da banana — espécie *paradisiaca* — porém os vasos de ambas são diferentes e favorecem imediata identificação.

Composição química — Água, proteína, amido, lipídios, ácido oxálico, sacarose, dextrose, levulose, fitina, lecitina, enzimas (amílase, catalase, lacase e peroxidase), celulose e sais minerais. Vitaminas: C.

ABÓBORA (*Cucurbita pepo* L. — *Cucurbita maxima* Duch.)

CUCURBITÁCEAS

Planta natural da América, onde já era conhecida dos aborígenes antes de sua descoberta.

É cultivada em todo o território brasileiro. Em nosso Estado há grandes plantações.

Empregada na arte culinária e na fabricação de doces, quando madura. Usada comumente como adulterante de produtos alimentícios, principalmente de massas de tomate. As sementes (pévidas) têm aplicação terapêutica como tenífugo para crianças, por serem desprovidas de toxidez, devendo sua ação farmacodinâmica a uma resina — Peporesina.

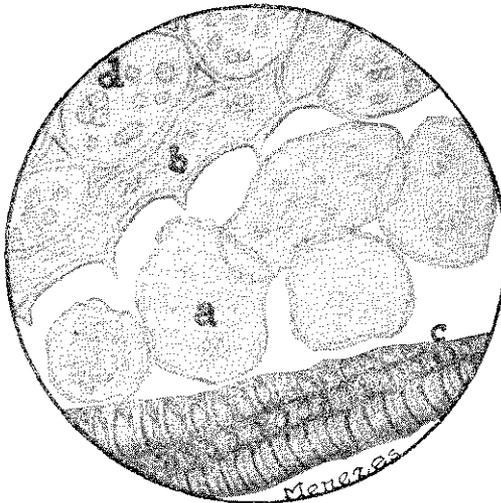


FIG. 30 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE ABÓBORA
(aumento: 400 x)

Estrutura microscópica — a) células do mesocarpo, arredondadas ou poliédricas, de paredes finas, menores do que as do tomate, algumas quase vazias, outras contendo pigmentação amarela e grãos de amido alterados pelo calor; b) tubos de látex que acompanham as células do mesocarpo; c) ductos espiralóides grandes; d) células amilíferas do mesocarpo (sem sofrer ação do calor).

Composição química — Água, protídios, lipídios, amido, sacarose, dextrose, levulose, fitina, adenina, trigonelina (cloridratos), enzimas (peroxidase — na semente), caroteno, cucurbiteno, celulose e sais minerais. Vitaminas: A, B₁, B₂, B₆ e C.

BEBIDAS ESTIMULANTES

CAFÉ (*Coffea arabica* L. — *Coffea liberica*)

RUBIÁCEAS

É originário da África e nações maometanas. Cultivado na Abissínia, Moka, Índias Ocidentais, América Central, Pôrto-Rico, São Domingos, Haiti, Jamaica e na América do Sul — Colômbia, Venezuela, Guianas, Equador e Brasil, onde a cultura e a exportação são feitas em larga escala, especialmente no Estado de São Paulo, representando apreciável patrimônio agrícola. A *Coffea arabica* é mais aromática que a *C. liberica*, porém esta é mais resistente ao ataque das diversas pragas, motivo pelo qual a sua cultura é preferida por muitos países (Java, Sibéria e Ceilão). Há muitas espécies conhecidas, com sabor e aroma diversos, motivando a cada país a predileção por uma delas. Há espécies sem cafeína. O infuso constitui uma bebida estimulante e como tal aplicada em medicina (estimulante das funções cerebrais, da circulação e da digestão).

No Brasil a fraude é feita exclusivamente com a própria casca do café.

Estrutura microscópica — Elementos do pó da semente torrada: a) espermoderma, constituído por células esclerenquimatizadas, muito alongadas, de paredes grossas, porosas, caniculadas obliquamente e dispostas irregularmente sobre uma membrana quase sem estrutura; b) células do endosperma, isodiamétricas, de

paredes espessas, nodosas, marcadamente porosas, contendo gotas oleosas, substância protéica, matéria corante, etc.; c e d) gotas oleosas e fragmentos dos tecidos, espalhados no campo microscópico.

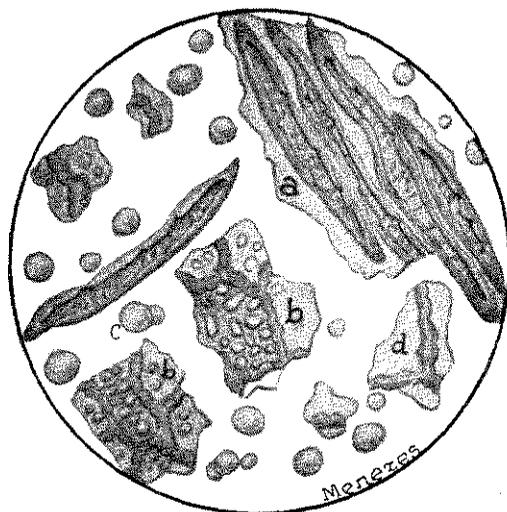


FIG. 31 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE SEMENTE DE CAFÉ
(aumento: 400 x)

Composição química — Cafeína (1 a 2%), ácido clorogênico, glicose, dextrina, sacarose, matérias graxas, protídios, pectina, tanino (ácido cafetânico).

CHÁ (*Thea sinensis* L.)
TERNSTREMEÁCEAS

O chá tem seu *habitat* na região meridional da Ásia e talvez na Índia.

É planta silvestre do Assam, cultivada na China, Japão, África, Índias Orientais, Carolina do Sul e, principalmente na Índia e no Ceilão, donde é intensamente exportada. É cultivada também no Brasil, onde existem grandes plantações no litoral paulista, principalmente da variedade Assam, que cresce muito bem nas proximidades do mar e em climas quentes. As variedades principais são: *Thea Bohea*, *T. viridis*, *T. stricta*, *T. assamica*. Os tipos *verde* e *preto* são os mais conhecidos, havendo, entretanto, o *amarelo* e *vermelho*.

Tem aplicação terapêutica — diurético e estimulante cardíaco.

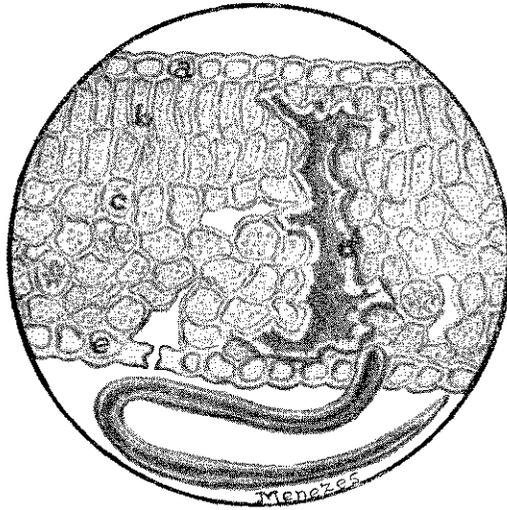


FIG. 32 — FÓLHA DE CHA
(aumento: 400 x)

Estrutura microscópica — Fôlha — corte transversal: a) epiderme superior, de paredes estreitas e onduladas; b) células paliçádicas do tipo comum, com grãos de clorofila; c) parênquima esponjoso do mesófilo, contendo clorofila e cristais de oxalato de cálcio em rosetas; d) célula pétrea, característica (esclerito) muito grande, ramosa, irregular, que atravessa todo o mesófilo; e) epiderme inferior, contendo estômato e tricoma típico, unicelular, longo; tricomas numerosos nas fôlhas jovens.

Nota — As fôlhas depois de desenroladas mediante prévio tratamento por água fervente deverão ser estendidas sôbre lâmina de vidro a fim de serem identificadas pelos seus caracteres botânicos exteriores, que são os seguintes: fôlhas ovais — oblongas, ligeiramente acuminadas, de 2 a 7 cm de comprimento por 1 a 2 cm de largura, inteiras ou lisas no sexto inferior da sua borda, sendo o restante denteado até o ápice e cada dente possuindo um ponto enegrecido em forma de garra. A nervura mediana é saliente e as secundárias se anastomosam em forma de arco perto da borda.

Composição química — Cafeína, teofilina, teobromina, adenina, xantina, óleo volátil, protídios, tanino, ácido gálico, ácido oxálico, ácido cinâmico, glucotânico.

MATE (*Ilex paraguayensis* St. Hil).

AQUILOFIACEAS

A planta cresce espontâneamente nas florestas sul-americanas e é cultivada no Paraguai, Brasil, Argentina e Bolívia. Os nossos Estados hervateiros são: Paraná, Santa-Catarina e Mato-Grosso.

São várias as espécies conhecidas (*ovalifolia*, *theezans*, *amara*, *crepitans*, *Humboldtiana*, etc.)

É considerada bebida de grandes virtudes.

Usado em Bromatologia, porém muito pouco em medicina, muito embora tenha propriedades semelhantes às do Chá e do Café.

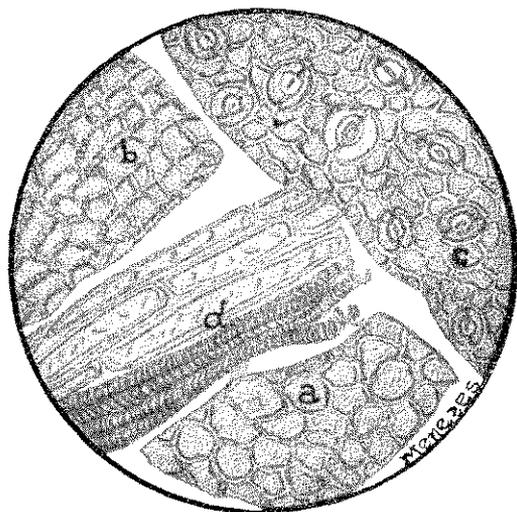


Fig. 33 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE FÓLHA DE MATE
(aumento: 400 x)

Estrutura microscópica — a) epiderme superior de paredes grossas, poligonais, em forma de contas, com cutícula estriada; b) epiderme situada sôbre as nervuras, com paredes quadrilaterais, alongadas transversalmente, formando fileiras em forma de escada de mão; c) epiderme inferior, de células poligonais, nodosas, apresentando reticulações, numerosos estômatos implantados profundamente e poro água; d) feixes de fibras e vasos espiralóides. Ausência de pêlos.

Nota — O mate deve ser submetido a um tratamento prévio de descoloramento pelo cloro nascente (clorato de potássio, água e

ácido nítrico, a quente), a fim de que seus tecidos obtenham suficiente transparência para a observação microscópica em exame de superfície. A histologia desses elementos oferece maior número de caracteres anatômicos típicos que a apresentada pelo simples arranjo anatômico observado em corte transversal.

Composição química — Cafeína, óleo volátil, tanino (ácido matetânico), protídios, resina, ácido clorogênico, ácido oxálico, vanilina, colina.

GUARANÁ (*Paullinia cupana* Kunth)
SAPINDÁCEAS

Planta da região equatorial da América do Sul.

É encontrada no Pará, Goiás, Mato-Grosso e principalmente no Amazonas, onde existe em abundância em Maués, centro industrial e exportador de bastões e sementes de guaraná.

O pó de guaraná teve aplicações as mais extravagantes na medicina popular e foi considerado panacéia indispensável nos lares. Com êle se prepara um bebida refrigerante, muito usada nos Estados do Norte, denominada "Guaraná". Com o mesmo nome é conhecido um refresco efervescente de largo consumo no país. É um dos caféicos mais usados em medicina (estimulante do sistema nervoso, das funções cerebrais, cardiodinâmicas, antidiarético, etc.) e o que possui maior percentagem do alcalóide (4,8%).

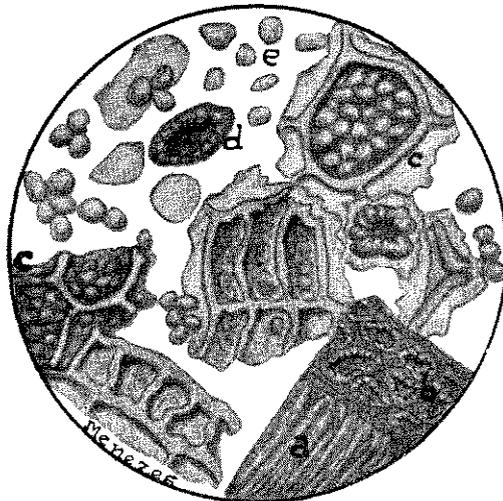


FIG. 34 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE GUARANÁ
(aumento: 300 x)

Estrutura microscópica — Semente em pó: a) epiderme externa do espermoderma, de células paliçádicas, sinuoso-ondeadas, de paredes grossas; b) parênquima pardo de tecido sólido situado logo abaixo da epiderme, constituído por uma parede de esclérulas; c) células do parênquima amilífero, de paredes grossas, isodiamétricas ou arredondadas, repletas de grãos de amido; d) célula pétreo do espermoderma; e) grãos de amido, arredondados, alongados, irregulares, medindo de 5 a 15 μ de diâmetro, podendo atingir 25 μ . Apresentam-se isolados ou agrupados em dois, três ou quatro elementos, sem, entretanto, formar grãos compostos. Notam-se, ainda, no campo microscópico, fragmentos de tecidos e células pétreas do espermoderma.

Composição química — Cafeína (guaranina), tanino, catecois, óleo fixo, óleo volátil, amido, saponina, flavonas.

CONDIMENTOS

TOMATE (*Solanum Lycopersicum* L. — *Lycopersicum esculentum* Mill.)

SOLANÁCEAS

Muitas espécies são agrestes e também cultivadas na América do Sul.

Entre nós é muito difundido o uso do tomate para condimentos, saladas, e de grande aplicação industrial na elaboração de molhos e concentrados de tomate. As variedades vermelhas são as mais cultivadas em nosso Estado (“redondo”, “pêra”, “purungo”, “Alsa Graig”, “triumph”, “rádio”, “canárias” e “Rei Humberto”).

O produto comercial é constantemente sujeito a fraude.

Estrutura microscópica — a) epicarpo de células poligonais, de paredes grossas, em forma de contas, contendo pigmentação amarelo-alaranjada; as células do hipoderma são morfológicamente semelhantes, porém, maiores; b) células do mesocarpo, grandes, arredondadas, contendo cromatóforos e, algumas, grãos de amido; c) feixe de ductos espiralóides finos; d) células características do espermoderma, isodiamétricas, marcadamente sinuosas e esclerificadas, revestidas de falsos pêlos; e) endosperma, de células arredondadas, cheias de aleuroma e de gotas oleosas.

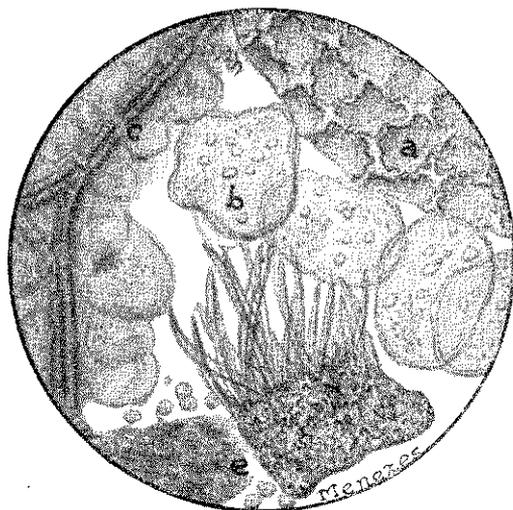


FIG. 35 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE TOMATE
(aumento: 200 x)

Nota — Nas massas e condimentos de tomate de baixo preço, preparados com o fruto integral, triturado, são encontrados pequenos filamentos brancos, recurvados, à semelhança de vermes, constituídos pelos embriões das sementes.

Composição química — Água, proteína, gordura, amido, sacarose, dextrose, levulose, ácido cítrico, ácido málico, pectina, fitina, caroteno, licopeno, enzimas (oxidase e catalase), celulose e sais minerais. No fruto verde existe um alcalóide (narcotina) que se transforma em vitamina C, com o amadurecimento do tomate. Vitaminas: A, B₁, B₂, C e K.

PIMENTÃO (*Capsicum annum* L.)

SOLANÁCEAS

A planta é originária da América tropical e da Índia.

O pimentão é uma das muitas espécies do gênero *Capsicum*, porém não apresenta o sabor acre das demais, sendo por este motivo denominado pimenta doce. Há, aproximadamente, 60 variedades cultivadas nas regiões quentes e temperadas do globo. É uma baga,

ordinariamente alongada, volumosa, mais ou menos ôca, de côr verde ou vermelha, possuindo aroma e sabor particulares.

É usado na arte culinária na confecção de saladas, etc., e industrialmente no preparo de picles e condimentos vários. Costuma ser adulterante das conservas de tomate. Tem propriedades farmacodinâmicas (estimulante, estomáquico etc.).

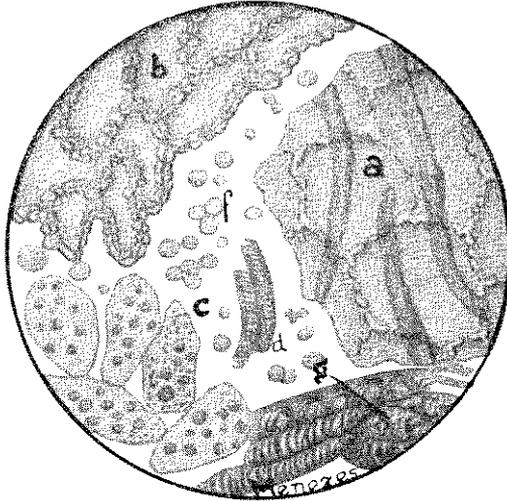


FIG. 36 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE PIMENTÃO
(aumento: 400 x)

Estrutura microscópica — a) epicarpo de células poligonais em forma de contas, mostrando os sulcos longitudinais da cutícula; b) endocarpo, cujo tecido apresenta células esclerificadas, de contornos irregulares e paredes grossas, também conhecido com o nome de tecido pulmonar; c) células do mesocarpo, contendo gotas oleosas, de côr vermelho-alaranjada, notando-se em algumas a presença de grãos de amido, muito pequenos e que são notados, principalmente, no fruto imaturo; d) ductos espiralóides finos; f) gotas oleosas espalhadas no campo microscópico; g) ductos grandes, espiralóides, pontoados e reticulados, provenientes do cálice.

Composição química — Água, resina, óleo-resina, capsacutina ou capsaicina, capsicina, essência (capsicol), matéria corante. Vitaminas: C.

PIMENTA DO REINO (*Piper nigrum* L.)
PIPERÁCEAS

Planta originária das costas da Índia, Malabar, regiões tropicais e cultivada em Java, Sumatra, Bornéu, Ceilão, Singapura e no Brasil, nos Estados do Norte. O fruto é uma baga séssil, globulosa, de cor vermelha ou parda quando maduro. A colheita se faz antes da completa maturação do fruto e, pela dessecação sofrida, o pericarpo se retrata, enrugua e enegrece. Tem cheiro aromático e sabor picante. A pimenta branca é a mesma pimenta negra, descorticada.

Constitui um dos condimentos mais apreciados entre nós.

É um produto sujeito a fraudes.

Raramente usado em medicina como aromático, carminativo e estomáquico.

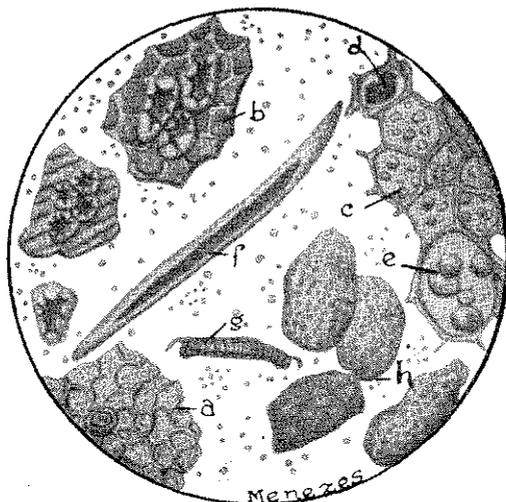


FIG. 37 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE PIMENTA DO REINO
(aumento: 200 x)

Estrutura microscópica — a) epicarpo, de células poligonais, e de conteúdo pardo; estômato; b) hipoderma com células pétreas ligeiramente alongadas; c) mesocarpo contendo grãos de amido extremamente pequenos; d) célula de óleo-resina; e) célula com óleo essencial; f) fibras pericíclicas, alongadas, de cor amarela; g) traquéias com espirais serradas; h) células amilíferas do albúmen, cheias de pequeníssimos grãos de amido, com o aspecto de pequenos blocos de cor acinzentada e de contornos quase arredondados.

O campo microscópico apresenta inúmeros grãos de amido, isolados.

Composição química — Água, óleo essencial (felandreno e cadineno), resina acre, alcalóides (peperina e peperidina), amido, proteínas.

PIMENTA DA JAMAICA (*Myrtus pimenta* L.)

MIRTÁCEAS

É nativa na parte leste das Índias. Cultivada em grande escala na Jamaica.

O fruto é uma baga, globular, de côr parda, verruguenta, medindo no máximo 8 mm de diâmetro, coroado pelos quatro lóbulos do cálice. Possui gosto e aroma idênticos aos da mistura de cravo da Índia e canela.

É usada como condimento, inteira ou reduzida a pó.

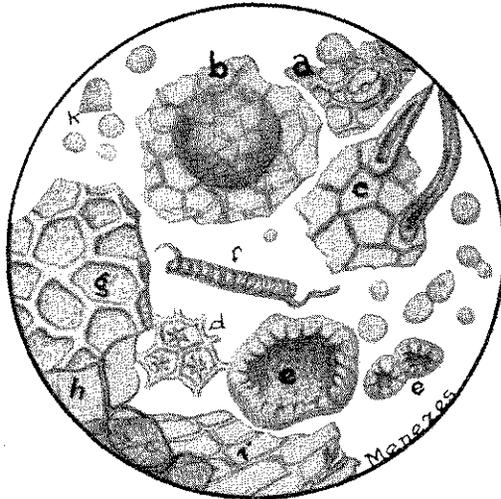


Fig. 38 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE PIMENTA DA JAMAICA (aumento: 300 x)

Estrutura microscópica — a, b, c) epicarpo, de células pequenas, deixando ver, respectivamente, estômatos, glândula de óleo e pêlos unicelulares curtos e tortuosos; d) células com cristais em rosetas; e) vários tipos de células pétreas; f) ductos espiralóides do mesocarpo; g) espermoderma, de células pardas,

vistas em corte transversal; h) células pardas vistas de superfície; i) epiderme externa.

CANELA DA CHINA (*Cinnamomum cassia* Bl.)

LAURACEAS

É a casca, privada de epiderme, de diversas árvores do gênero *Cinnamomum*. Cresce em Malabar e sobretudo nas regiões montanhosas da China. Tanto as canelas da China, como as da Indo-China parecem provir da espécie tipo *Cinnamomum obtusifolium* Nees e seriam consideradas como variedades.

Apresenta-se em pedaços grossos, enrolados sobre si mesmos, trazendo traços do súber. Cheiro forte, pouco agradável, sabor doce. É muito apreciada como condimento, tanto em pó como em casca, principalmente para doces.

Costuma ser adulterada com diversas féculas. Tem, como a canela do Ceilão, aplicação farmacológica, entrando na composição de inúmeras fórmulas oficiais e magistrais, sendo também usado o óleo essencial como antisséptico na clínica odontológica e em vários setores da indústria.

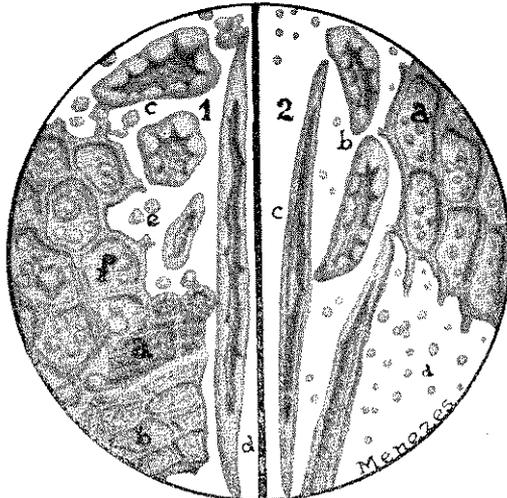


FIG. 39 (1) — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE CANELA DA CHINA

(aumento: 200 x)

(2) — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE CANELA DO CEILÃO

(aumento: 200 x)

Estrutura microscópica — Fig. 39 (1) (aumento: 200 x). a) camada suberosa, de células retangulares e de paredes espessas; b) epiderme com cutícula espessa; c) células pétreas do

parênquima cortical, com lume bem aberto; d) fibras liberianas mais grossas e menos longas que as da canela do Ceilão; e) grãos de amido esparsos no campo microscópico; são grandes, arredondados, variando de 12 a 22 μ de diâmetro; f) parênquima amilífero.

Composição química — Óleo essencial (aldeído cinâmico, acetato de cinamila, eugenol, felandreno e aldeído ortometilcumárico), sacarose, manita, mucilagem, tanino, amido, resina, oxalato de cálcio.

CANELA DO CEILÃO (*Cinnamomum zeylanicum* Breyne).

LAURÁCEAS

É indígena das florestas do Ceilão e cultivada nas Índias, México e América do Sul. Vem ao comércio em longos tubos, da grossura de um dedo, formados por grande número de cascas delgadas e lisas, cujas bordas laterais se enrolam simetricamente de fora para dentro. Amarela na parte externa e pardo-avermelhada na interna.

Tem cheiro fino e aromático, sabor agradável, doce, quente, depois acre e picante. Em pó ou em casca é usada como condimento.

É também constantemente fraudada.

Entra na composição de muitas fórmulas de produtos farmacêuticos, devendo à essência a sua ação farmacodinâmica (estimulante das funções digestivas, aromático, antisséptico, etc.); de dentifrícios e de produtos de toucador.

Estrutura microscópica — Fig. 39 (2) (aumento: 200 x). a) parênquima amilífero; b) células pétreas finas, mais longas e de lume mais estreito do que as da canela da China; c) fibras de paredes finas e mais alongadas; d) grãos de amido em menor quantidade e muito menores do que os da canela da China, medindo em média 6 μ .

Composição química — Óleo essencial (aldeído cinâmico, eugenol, felandreno, safrol, linalol, pineno, aldeído benzóico, aldeído nonílico, aldeído cumínico, metilamilacetona, etc.), sacarose, manita, mucilagem, tanino, amido, resina, oxalato de cálcio.

CRAVO DA ÍNDIA (*Eugenia caryophyllata* Thunb — *Caryophyllus aromaticus* L.)

MIRTÁCEAS

Planta originária das ilhas Molucas e Filipinas. Cultivada em Zanzibar, Sumatra, Antilhas, Brasil e regiões tropicais.

É o botão floral do craveiro, dessecado ao sol. Tem a forma de um pequeno cravo de ferradura, de côr escura, sabor acre e picante, cheiro aromático, forte e fragrante. É um condimento muito apreciado pelo seu gôsto e sabor agradáveis.

A falsificação do pó é muito comum.

Tem aplicação em medicina (carminativo, aromático, anti-térmico e antisséptico), em odontologia para cauterizar a polpa na cárie dentária; em perfumaria e na indústria para a extração do eugenol e preparação da vanilina.

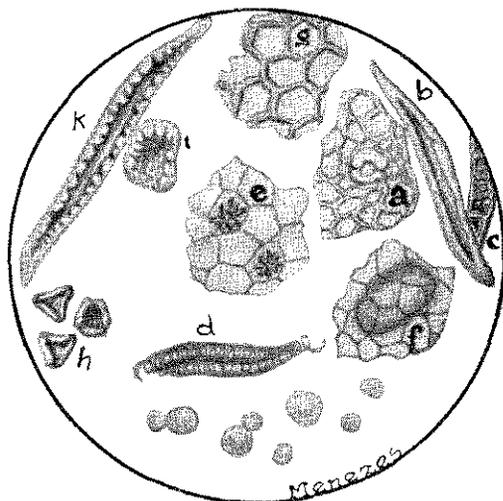


FIG. 40 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE CRAVO DA ÍNDIA
(aumento: 200 x)

Estrutura microscópica — Receptáculo: a) epiderme com estômato; b) fibra lisa, fusiforme, de côr branco-nacarada; c) fibras cristalíferas; d) ductos espiralóides; e) células com cristais em rosetas; f) cavidade de óleo essencial; g) epiderme da corola; h) grãos de pólen, triangulares, com três poros, da antera. Pedúnculo: i) célula pétrea; j) fibra de paredes espessas e caniculadas; l) gotas oleosas esparsas no campo microscópico. Ausência de amido.

Composição química — Mucilagem, tanino, cariofilina, resinas, óleo essencial (eugenol, acetileugenol, sesquiterpenos, cariofileno, vanilina, metilamicetona), ácido galotânico, oxalato de cálcio.

MOSTARDA NEGRA (*Sinapis nigra* L. — *Brassica nigra* Koch.)
CRUCÍFERAS

A mostarda negra é uma planta nativa e cultivada na Europa central e meridional. A semente é constituída por um grão muito pequeno, esférico ou ovóide, de côr vermelho-escura, cheiro fraco, mas que se torna forte quando triturada em presença d'água. Seu sabor é picante e amargo.

Usada como condimento, falsificada com farinhas e féculas diversas, curcuma, pó de sementes de nabo de colza e com a mostarda selvagem — *Sinapis arvensis*. A mostarda branca (*Sinapis alba* L.) é também muito usada como condimento. Os elementos do pó apresentam grande semelhança com os da mostarda negra, sendo porém, de côr amarela; possuem colênquima em vez de células gigantes, e, as células paliádicas, sendo da mesma altura, mostram um mosaico (b) uniforme, sem a rede de malhas poligonais grandes e escuras, típicas da mostarda negra.

É empregado em medicina como revulsivo, em cataplasmas rubefacientes ou em papéis sinapisados. A essência tem propriedades antissépticas.

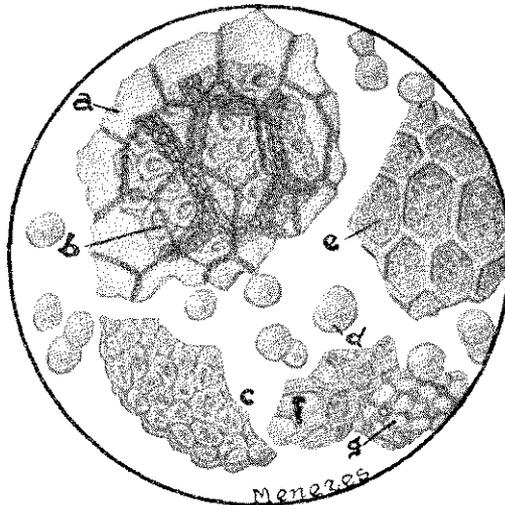


FIG. 41 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE MOSTARDA NEGRA.
(aumento: 200 x)

Estrutura microscópica — Espermoderma: a) epiderme externa, de células espessas, mais ou menos abauladas e que se entumescem em presença d'água; b) camada paliádica interna, constituída por células esclerosadas desiguais, de côr parda; c) tecido de células poligonais do cotilédone; d) gotas oleosas; e) células pigmentadas; f) endosperma contendo aleurona e óleo fixo; g) epiderme externa do cotilédone. Ausência de amido.

Nota — Em presença de água fria, a glicósido *Sinigrina* (mironato de potássio), sob a ação da enzima *Mirosina*, desdobra-se em glicose, isotiocianato de alila (C_3H_5NCS) ou óleo essencial de mostarda e sulfato ácido de potássio (SO_4HK). A quente não se produz a reação.

Composição química — óleo fixo, mucilagem, protídios, sinapina (alcalóide sob a forma de sulfato ácido), mirosina (enzima), sinigrina (glicósido), óleo essencial (isotiocianato de alila).

NOZ MOSCADA (*Myristica fragrans* Houtt.)
MIRISTICÁCEAS

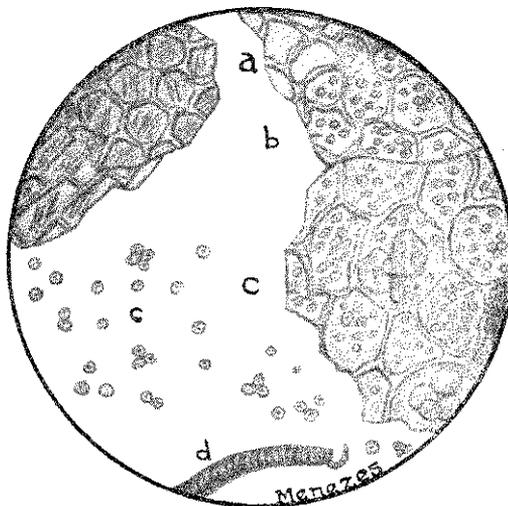


FIG. 42 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE NOZ MOSCADA
(aumento: 200 x)

É a noz do fruto da moscadeira, árvore das ilhas do arquipélago indiano e das Molucas. Cultivada na Maláia, Madagascar, Índias Ocidentais e na América do Sul (Guiana e Brasil). Apre-

senta-se no comércio desprovida do arilo, chamado *macis*. É dura, de forma oval, untuosa, com veios escuros, de cor cinzento-avermelhada, cheiro agradável, forte, e sabor quente e *sui-generis*.

Contém um óleo volátil e outro graxo, concreto, aromático, denominado manteiga de moscada.

É usada como condimento de doces, molhos e conservas, como medicamento popular (estimulante e carminativo) e faz parte de diversas preparações farmacêuticas officinais.

Estrutura microscópica — a) camada escura da epiderme, com cutícula, do espermoderma, formada de células de paredes espessas, retangulares e poliédricas, achatadas, contendo cristais de matéria graxa e de miristicina; b) hipoderma; c) mesófilo contendo células de paredes grossas, isodiamétricas, que encerram matéria graxa, óleo-resina, grande quantidade de amido e amilo-dextrina; d) vaso espiralóide; e) grãos de amido, pequenos, de hilo pontado bem visível, arredondados, de 4 a 6 μ de diâmetro, isolados e agrupados em 2, 3 e 4 elementos.

Observação — Para facilitar o exame microscópico o pó deve ser previamente tratado por álcool absoluto quente, a fim de separar a matéria graxa e deixar livres os tecidos e o amido.

O óleo pode ser amarelo ou alaranjado, conforme a espécie de que provém. Sob a ação dos álcalis, êste passa a vermelho e aquêle permanece amarelo.

Composição química — Óleo fixo (ácido oléico, linoléico, trimiristrina), óleo volátil (contendo miristicina ($C_{11}H_{20}O_3$), pineno, canfeno, dipenteno, safrol, eugenol, álcoois terpênicos, etc.), amido, amilo-dextrina, resina e proteínas.

GENGIBRE (*Zingiber officinale* Rosc.)

ZINGIBERÁCEAS

Planta originária da Índia, importada e cultivada nas Antilhas, Flórida, México, Brasil e tôdas as regiões tropicais do globo. É um rizoma, encontrado no comércio, desprovido de sua parte cortical branca. Tem a grossura de um dedo, achatado, palmado, duro, compacto. Externamente tem a cor acinzentada e, internamente, branco-amarelada. Seu sabor é acre e quente, cheiro forte e peculiar.

É condimento muito apreciado, principalmente para doces.

Entra na fabricação de um tipo de cerveja (Ginger beer) e de várias fórmulas farmacêuticas. É medicamento estimulante e carminativo.

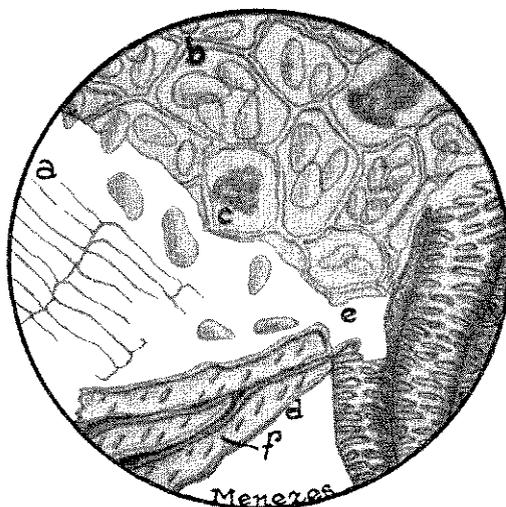


FIG. 43 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE GENGIBRE
(aumento: 200 x)

Estrutura microscópica — a) células do súber, de paredes finas, retangulares, dispostas em filas regulares; b) parênquima amilífero contendo grãos de amido irregulares, piriformes, ovóides, mais ou menos alongados, atingindo no máximo 45 μ de comprimento, não sendo visíveis estrias nem hilo; c) glândula de óleo-resina; d) vasos escalariformes e espiral-reticulados; e) células pigmentadas, alongadas, que acompanham os vasos; f) fibras típicas, com poros diagonais. Tanto os vasos como as fibras não são linhificados.

Composição química — Óleo essencial (cimeno, canfeno, felandreno, cineol, geraniol e borneol), amido, resinas, gingerol (substância amarela, viscosa, fenólica, que dá o sabor picante pungente) e matéria graxa.

CURCUMA (*Curcuma longa* L., *Curcuma tinctoria* L.)
ZINGIBERÁCEAS

Cresce na Índia, China, Japão e Java.

Há várias espécies de curcuma (arrow-roots), usadas como alimento, ricas em substância amilífera, porém, sem matéria co-

rante. (*C. leucorrhiza* Roxb., *C. angustifolia* Roxb., *C. rubescens* Roxb.).

A *Curcuma longa* é um rizoma, rico em matéria corante amarela (curcumina), utilizada como condimento e para colorir substâncias alimentícias. Possui sabor picante, aromático e amargo, e odor forte e agradável lembrando o da noz moscada.

Os rizomas da *Curcuma longa* e da *Curcuma rotunda* provêm do mesmo vegetal, sendo os da primeira constituídos pelas ramificações alongadas laterais da segunda, que é o rizoma central, arredondado ou ovóide.

Tem aplicações na indústria (corante de alimentos e de tecidos), na medicina (estimulante-pelo óleo essencial) e em química analítica, como reativo (ácido bórico e álcalis).

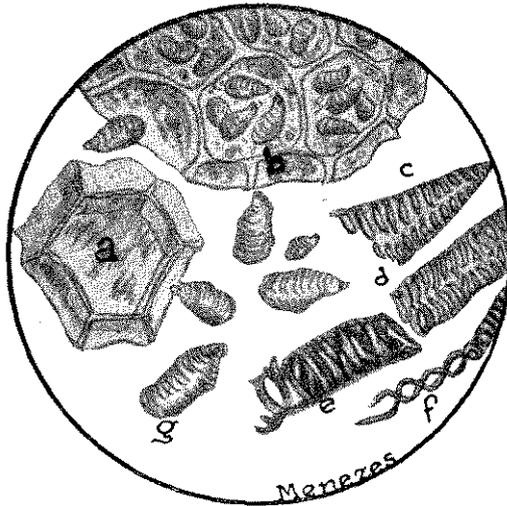


FIG. 44 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE CURCUMA
(aumento: 200 x)

Estrutura microscópica — Rizoma: a) camada suberosa, de células poligonais de paredes finas; b) parênquima amilífero, contendo grãos de amido característicos, alongados, ovóides, piriformes, hilo pontado, estrias bem visíveis e excêntricas, substância protéica de aspecto granuloso e glândulas de óleo-resina; c, d, e, f) vasos escalariformes, reticulados, espiral-reticulados e espiralóides; g) grãos de amido soltos no campo microscópico.

Observação: Os caracteres histológicos do rizoma fresco de curcuma muito se assemelham aos do gengibre, exceto na forma

do amido e dos feixes, pela ausência de fibras e presença de matéria corante.

Os grãos de amido podem apresentar-se deformados ou alterados pela ação do calor a que são submetidos os rizomas, a fim de assegurar sua conservação.

Composição química — Amido, resina, *curcumina* (substância cristalina amarela, solúvel em álcool) e óleo essencial, composto de felandreno e *curcumol* — isômero do timol.

ANIS OU ERVA DOCE (*Pimpinella anisum* L.)
UMBELÍFERAS

Planta originária do Egito, da Ásia menor e da Grécia, cultivada em grande parte da Europa e em várias regiões temperadas do globo. É muito apreciada e cultivada no Brasil.

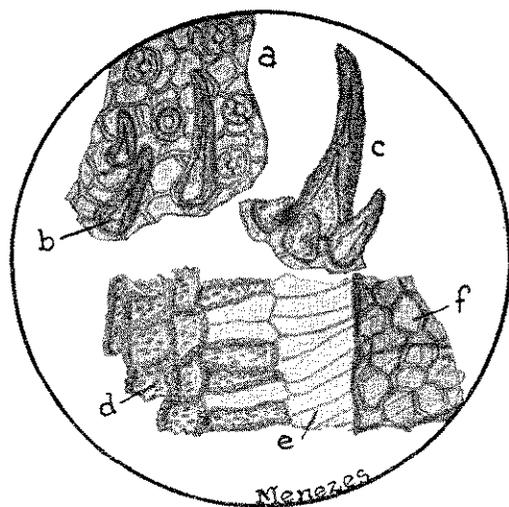


FIG. 45 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE HERVA DOCE (PÓ)
(aumento: 200 x)

Os frutos são de cor verde-cinzenta, pedunculados, pequenos, ovóides ou piriformes, separáveis em dois mericarpos, estriados, cobertos de curtos pêlos que lhes dão aspecto aveludado. São de contorno otogonal-arredondado vistos em corte transversal, apresentando cada mericarpo 5 saliências com feixes líbero-leñosos e numerosos canais secretores, contornando o grão. Possuem cheiro aromático suave e sabor adocicado e quente. Usados

como condimento, geralmente inteiros, como medicamento (estimulante, estomáquico e carminativo) e na extração industrial da essência (2 a 6%).

A essência de anís tem larga aplicação na indústria de bebidas, em Farmacotécnica e em Perfumaria.

Estrutura microscópica — a) epicarpo, de células pequenas, poligonais, com estômatos; b, c) pêlos unicelulares curtos e rudes, típicos, grossos, de forma cônica, verrugosos; d) mesocarpo com células esclerenquimatizadas; e) células transversais longas, de paredes finas, do endocarpo; f) canal secretor.

Composição química — óleo fixo, oxalato de cálcio, glicídios, mucilagem, colina e óleo essencial (anetol, aldeído anísico, ácido anísico, diversos sesquiterpenos, etc.).

COMINHO (*Cuminum cyminum* L.)

UMBELÍFERAS

Originário do alto Egito, Palestina e regiões adjacentes. É cultivado em Malta, Sicília, Marrocos, Síria, China e Estados- Unidos. Entre nós é cultivado, porém em pequena escala.

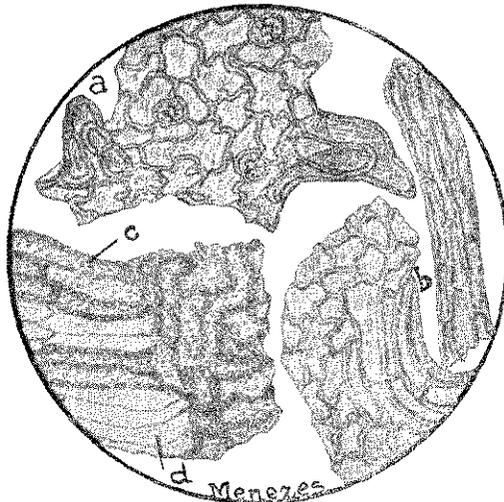


FIG. 46 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE COMINHO (Pó)
(aumento: 200 x)

O fruto é composto de dois mericarpos ligados um ao outro, de forma elipsóide, alongada, com 7 mm de comprimento, estriada.

Cada mericarpo contém 5 saliências primárias em forma de aduelas, guarnecidas de pêlos curtos e 4 secundárias, guarnecidas de grossos pêlos ou emergências. Sôbre cada saliência secundária existe um canal de óleo-resina e sôbre a primária um grande feixe líbero-lenhoso. Possui seis canais secretores. É aromático e de sabor agradável.

Usado como condimento, na indústria de bebidas (Kummel, licores), para extração da essência (3%) e como medicamento, de propriedades idênticas às do anis.

Estrutura microscópica — a) epicarpo, com pequenas emergências dos arcos primários; b) epiderme com emergências dos arcos secundários; c) células de esclerênquima do mesocarpo; d) células transversais, de paredes delgadas da comissura próxima do ápice.

Composição química — Óleo fixo, resina, tanino, óleo essencial (cuminal ou aldeído cumínico, cimeno, pineno, paracimeno e felandreno).

CORIANDRO (*Coriandrum sativum* L.)

UMBELÍFERAS

Sinonímia vulgar: Coentro.

Planta de zona temperada, nativa na parte setentrional da África e cultivada na Europa central, Rússia e Índias Orientais.

O fruto é quase globoso, trazendo, às vezes, restos de cálice. Cada mericarpo tem 5 saliências ou arcos primários, espessos, sinuosos, 6 secundários, finos, pouco pronunciados e possui 2 canais de óleo-resina ao lado da comissura.

Quando sêco, o fruto tem cheiro suave, sabor agradável e adocicado.

É usado na confecção de bombons e como condimento.

Tem propriedades medicinais (estimulante, estomáquico e carminativo) e a essência entra na fórmula de preparações oficiais farmacêuticas.

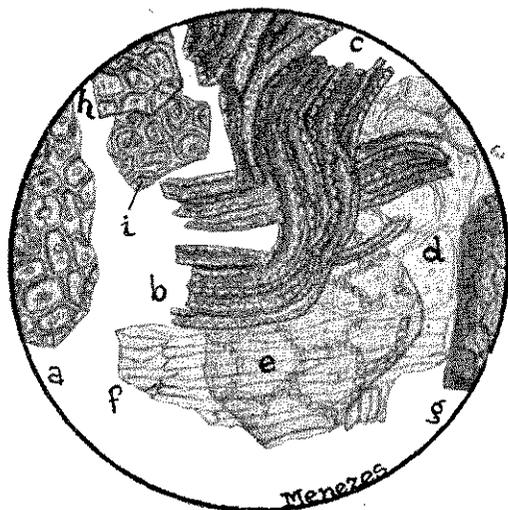


Fig. 47 — ELEMENTOS HISTOLÓGICOS DE CORIANDRUM (PO).
(aumento: 200 x)

Estrutura microscópica — a) epicarpo, de células poligonais, nodosas, contendo um ou mais cristais de oxalato de cálcio; b) camada fibrosa com elementos de paredes espessas, mais ou menos curvas, que atravessam diferentes camadas; c) vasos pontoados e espiralóides; d) células poligonais largas do mesocarpo; e) endocarpo, mostrando células poligonais de paredes em forma de contas e células (f) alongadas, transversais, muito compridas e ajustadas; g) canal secretor; h) epiderme externa, de células poligonais do espermoderma, de conteúdo amarelopardo; i) células de aleuroma, do endosperma.

Composição química — Óleo fixo, tanino, oxalato de cálcio, ácido málico, resina, óleo essencial (contendo *coriandrol* ou d-linalol, geraniol, d-pineno, limoneno e ésteres linalólicos).

RESUMO

No presente trabalho o Autor, levando em conta a não existência, em nosso vernáculo, de um compêndio de Microscopia Alimentar, dá início a uma série de publicações, a fim de facilitar o estudo e identificação das principais substâncias alimentícias, aos que desejam se dedicar a este ramo da bromatologia.

Procura, por meio do desenho, reunir em um só campo microscópico os elementos histológicos característicos a cada substân-

cia estudada e faz, com os necessários detalhes, a descrição de sua estrutura.

Aponta algumas das dificuldades surgidas na identificação microscópica das substâncias alimentícias e o meio de as vencer, aplicando-se tratamentos especiais como lavagem do material, descoramento, uso de solventes, reativos e corantes, bem como a necessidade da obtenção de cortes histológicos e da utilização da lupa na separação e colheita de substâncias estranhas.

Refere-se à semelhança da estrutura dos blocos de células pétreas e amilíferas da pêra (*Pyrus communis*) e do marmelo (*Pyrus cydonia*), das células cozidas da banana da terra (*Musa paradisiaca*) e da batata doce (*Ipomoea batatas*), e das células do tomate (*Solanum lycopersicum*) e da abóbora (*Cucurbita pepo*), indicando os detalhes anatômicos diferenciais que elucidam sua identificação.

Em seguida passa a fazer a descrição da estrutura microscópica das 47 substâncias estudadas seguintes: cereais, farinhas e féculas, frutos mais usados na confecção de doces, alguns condimentos e vegetais utilizados no preparo de bebidas estimulantes.

SUMMARY

With the present paper the Author, considering that there does not exist, in the Portuguese language, a handbook on food microscopy, starts a series of publications in order to facilitate the study and identification of the most important foodstuffs for those who wish to dedicate themselves to this branch of bromatology.

He tries, through drawings, to join in one microscopical field the histological elements which characterize each studied substance, and makes, with the necessary details, the description of their structure.

The Author points out some of the difficulties which arose in the microscopic identification of foodstuffs, and the way to overcome them, using special treatments such as washing of the material, discolouring, use of solvents, reagents and dyes, as well as the necessity of obtaining histological sections and employing a magnifying glass for the separation and collection of foreign substances.

Reference is made to the similarity in the structure of the blocks of stony and starchy cells of the pear (*Pyrus communis*) and of the quince (*Pyrus cydonia*), of the cooked cells of the banana (*Musa paradisiaca*), and of the sweet potato (*Ipomoea batatas*) and of the cells of the tomato (*Solanum lycopersicum*) and of the pumpkin (*Cucurbita pepo*), giving the anatomic differential details which elucidate their identification.

There is also made the description of the microscopical structure of 47 studied substances of the following groups: cereals, flour and starches, the most frequently used fruits in the preparation of canned, preserved and paste comfits, some spices and plants with stimulant properties used in the preparation of drinks.

BIBLIOGRAFIA

- CASTRO, P. — Cereales e outras plantas-Instruções para a sua cultura. São Paulo, Dir. Publ. Secr. Agr. Ind. e Com., 1930.
- CUNHA, J. F. — Cultura da bananeira. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 1948.
- HAGER, M. — El microscópio y sus aplicaciones. Barcelona, Gustavo Gili, 1922.
- HÉRAIL, J. — Traité de matière médicale. Pharmacographie. Paris, Baillière, 1927.
- MACÉ, E. — Les substances alimentaires. Paris, Baillière, 1891.
- MENEZES Jr., J. B. F. — 1942 — Do exame microscópico do guaraná em bromatologia. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 2: 45-68.
- MENEZES Jr., J. B. F. — 1946 — Investigações sobre alterações da estrutura vegetal pela ação do calor. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 6: 183-192.
- MOELLER, J. — Guia para ensaios micro-farmacognósticos — Versão castelhana de Ismael Astrada. Buenos-Aires, Labor, 1927.
- PADRON G., J. e J. B. F. Menezes Jr. — 1948 — Contribuição ao estudo e à aplicação do método de Howard nas contagens de cogumelos dos produtos de tomate. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 8: 99-136.
- PESCE, C. — Oleaginosas da Amazonia. Belém, Of. Graf. Rev. Veterinaria, 1941.
- RIBEIRO, F. — Vitaminas. São Paulo, Gráficas Siqueira, 1942.
- SILVA, R. A. D. — Pharmacoepia dos Estados Unidos do Brasil. São Paulo, Editora Nacional.
- STEPP, W. — Fisiologia, Patologia, Terapeutica y Política Sanitaria de la Alimentacion. Barcelona, Labor, 1942.
- WINTON, A. L. — The structure and composition of foods. New York, 1932.

ASSOCIAÇÃO DE PENICILINA G — PROCAÍNA E PENICILINA POTÁSSICA: NÍVEIS SANGÜÍNEOS E APLICAÇÃO NO TRATAMENTO DA PNEUMONIA LOBAR.*

DECIO DE OLIVEIRA PENNA

Do Hospital das Clínicas

HASSIB ASHCAR

Do Institutô "Adolfo Lutz"

CELIO FONTÃO CARRIL e MURILLO R. VIOTTI

Do Hospital das Clínicas

INTRODUÇÃO

O emprêgo da penicilina como agente terapêutico vem tendo uma expansão cada vez maior e uma das conseqüências desta atenção voltada para o valioso antibiótico foi o aparecimento, nos últimos anos, de várias preparações em que a penicilina, associada a determinadas substâncias e em veículos diversos, pode ser administrada de forma a conciliar a eficiência terapêutica com o confôrto do paciente. Realmente, tôdas estas preparações tinham como característica fundamental a possibilidade de manter níveis penicilínicos sangüíneos prolongados pelo uso de injeções a intervalos longos. A primeira destas preparações que surgiu foi a penicilina G-procaína, em que a associação da penicilina G à procaína, formando cristais pouco solúveis, permitia níveis sangüíneos satisfatórios por 24 a 36 horas, com a dose de 300.000 unidades em suspensão oleosa ou aquosa. Mais tarde, apareceu nova forma, em que a penicilina G-procaína era suspensa num veículo constituído por óleo vegetal gelificado com 2% de monoestearato de alumínio, obtendo-se assim uma preparação em que cada centímetro cúbico continha 300.000 unidades do antibiótico

Recebido para publicação em 24 de fevereiro de 1950.

(*) Trabalho realizado no Instituto "Adolfo Lutz" e no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Apresentado ao Quarto Congresso Brasileiro de Farmácia, realizado, em julho de 1950, em Salvador.

e permitia a obtenção de níveis estáveis, embora baixos, por 96 ou mais horas.

Graças aos bons resultados experimentais e clínicos obtidos com tais preparados, passaram êles a ser largamente usados, de tal maneira que o uso da penicilina simples, administrada cada 3 horas, rapidamente perdeu terreno em favor dessas formas de ação prolongada. Apesar de tudo, porém, sempre havia os casos nos quais seria de desejar o estabelecimento rápido de níveis penicilínicos altos, o que não poderia ser conseguido pelo uso das preparações que referimos. Daí veio a idéia de associar em uma mesma injeção a penicilina G-procaína e a penicilina potássica: esta teria por função estabelecer níveis altos iniciais, e aquela permitiria níveis tardios estáveis.

Como se vê, as vantagens de uma tal preparação são grandes, principalmente por permitirem a obediência a um dos princípios da terapêutica anti-infecciosa que é o da conveniência de atacar o germe com doses iniciais altas, as quais evitam eventual adaptação e resistência do microrganismo ao antibiótico, cujo aparecimento é possível pelo uso de doses subeficazes.

No presente trabalho estudaremos os níveis sangüíneos de penicilina obtidos após a administração, por via intramuscular, de 300.000 unidades de penicilina G-procaína associadas a 100.000 unidades de penicilina potássica; estudaremos, também, os resultados obtidos com tal preparação no tratamento da pneumonia lobar, usando apenas uma dose inicial do medicamento. Tal método de tratamento da pneumonia, ou seja, o uso de dose inicial única de penicilina, já foi empregado com bons resultados por BOGER *et al.* (1948), usando penicilina G-procaína suspensa em óleo, e por nós (1948), usando penicilina G-procaína em suspensão aquosa.

MATERIAIS E MÉTODOS USADOS

A preparação usada foi uma associação de penicilina G-procaína (300.000 unidades) mais 100.000 unidades de penicilina potássica ("Pen-Aqua" *). Tal preparado vem acondicionado em frascos-ampôlas, sob a forma de pó ao qual deve ser adicionada água destilada estéril, pouco antes do momento da aplicação. A quantidade de água a ser acrescentada é de 1 ml, mas poderá

(*) Agradecemos à direção científica do Laboratório S.A. pelo fornecimento do produto usado no presente trabalho.

ser usada sem inconvenientes quantidade pouco maior do solvente; PENNA *et al.* De modo geral, nunca usamos no presente trabalho mais de 1,2 ml de água destilada.

A via de administração é a intramuscular profunda, de preferência na região glútea. A aplicação deve obedecer a determinados cuidados técnicos. Deve-se agir do seguinte modo:

1) Introduzir no frasco 1 a 1,2 ml de água destilada estéril, agitando em seguida para obter a suspensão do preparado.

2) Com o paciente em decúbito ventral ou em pé, introduzir profundamente no quadrante súpero-externo da região glútea uma agulha longa e calibrosa (4 cm x 1 mm). Aspirar, ligeiramente, com a seringa para verificar se a extremidade da agulha não penetrou num vaso sanguíneo.

3) Após nova agitação do frasco, retirada do seu conteúdo usando outra agulha bem grossa. Não deve haver preocupação de evitar entrada de um pouco de ar na seringa, nem se deve procurar retirar o que tenha lá entrado, como habitualmente se faz.

4) Sem perda de tempo, adaptação da seringa na agulha já inserida no músculo do paciente e injeção mais ou menos rápida.

Com estes cuidados, geralmente não há dificuldade na aplicação. Por várias vezes fizemos a injeção sem tais cuidados, principalmente sem inserir previamente a agulha na região escolhida. Observamos, então, por vezes, obstrução da agulha por acúmulos de cristais de penicilina G-procaína. Quando isto se der, a orientação aconselhada é providenciar nova agulha; enquanto isso, agita-se a suspensão na própria seringa, após aspirar um pouco de ar.

A injeção desperta, em geral, muito pouca dor, sendo esta quase sempre limitada à da picada.

Para dosagem dos níveis penicilínicos, colheu-se de cada vez 7 a 10 ml de sangue, por punção venosa, usando técnica asséptica. Em todos os casos fêz-se uma colheita antes da administração do antibiótico, para demonstração da ausência de substâncias inibidoras em circulação. Este cuidado é indispensável, como prova o achado, em 2 dos casos, de níveis dosáveis que provavelmente corriam por conta de medicação prévia não relatada pelos pacientes, apesar de interrogatório sistemático nesse sentido. Depois da aplicação, novas colheitas foram feitas após 1/2, 1, 3, 9, 12,

18, 24 e 36 horas. Imediatamente depois da colheita em tubos esterilizados o sangue foi recolhido a refrigerador, enquanto aguardava o momento das dosagens. Estas foram feitas pelo método biológico das diluições seriadas em tubos, processo descrito por FLEMING (1942). O germe de prova usado foi a cultura padrão de *Staphylococcus aureus* H. Tal método permite o reconhecimento de taxas de 0,04 unidade/ml, como mínimo dosável. *

OBSERVAÇÕES FEITAS E RESULTADOS CLÍNICOS

A preparação em estudo foi administrada a 20 pacientes, distribuídos em dois grupos (I e II), constituídos, respectivamente, de indivíduos sãos (ou portadores de afecções dermatológicas locais sem qualquer repercussão geral) e de portadores de pneumonia lobar. Os componentes de ambos os grupos eram todos adultos de ambos os sexos.

No grupo I, que compreende 8 indivíduos normais ou que para o nosso estudo podem ser tidos como tal, os níveis penicilínicos obtidos no sêro foram os constantes do quadro I, onde também constam os valores médios obtidos para os horários respectivos.

QUADRO I

GRUPO I		HORAS APÓS APLICAÇÃO								
N.º	INICIAIS	0	1/2	1	3	9	12	18	24	36
1	C. F. C.	0	1,28	0,70	0,40	0,40	0,36	0,32	0,16	0,06
2	M. R. V.	0	1,70	1,80	0,67	0,40	0,34	0,30	0,30	0,12
3	L. A. M.	0	1,80	1,34	0,36	0,36	0,26	—	0,18	0,18
4	A. G.	0	2,20	1,50	1,00	0,37	0,24	0,12	0,06	0,04
5	C. F. C.	0	1,28	1,28	0,60	0,28	0,24	0,14	0,12	0,00
6	R. D.	0	1,28	1,28	0,48	0,30	0,24	0,14	0,12	0,06
7	B.	0	1,34	1,28	—	—	0,12	—	0,06	0,06
8	P. N.	0	1,28	2,28	—	—	0,12	—	0,06	0,00
	MÉDIAS		1,52	1,31	0,58	0,35	0,24	0,20	0,13	0,06

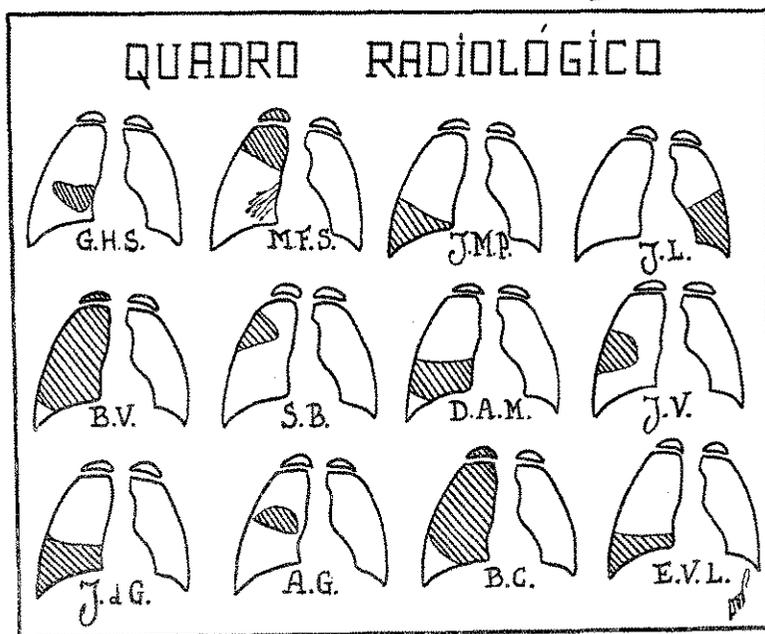
Como se vê, em todos os casos foram obtidos níveis bastante elevados 1/2 e 1 hora após a injeção, bastando notar que apenas no caso n.º 1 (C.F.C.) foi obtida taxa inferior a 1 unidade por ml de sêro, tôdas as outras dosagens ultrapassando êsse valor e chegando, por vêzes, a mais de 2 unidades, como nos casos 4 (A.G.) e 8 (P. N.).

(*) Nossos agradecimentos aos auxiliares da Subsecção de Micologia do Instituto "Adolfo Lutz", D. Lígia P. Schomburg e Sr. José da Silva Costa, pela colaboração na parte técnica. Agradecemos, também, à Sta. Carmen A. Dias pelos cuidados de enfermagem.

Com o correr das horas observou-se queda progressiva dos níveis, mas após 24 horas todos os pacientes apresentavam taxas apreciáveis, variando desde 0,06 unidade/ml até 0,30. Após 36 horas a dosagem feita em 8 casos demonstrou níveis dosáveis em 6, variando os títulos entre 0,04 e 0,18. Portanto, ao fim de 36 horas, em 2 pacientes não havia mais níveis penicilínicos dosáveis.

O grupo II compreende 12 pacientes nos quais, por ocasião da entrada no hospital, foi estabelecido o diagnóstico de pneumonia lobar. Tal diagnóstico foi feito com base nos dados de anamnese, exame físico e radiografia de tórax, feita sistematicamente, e cujos achados estão reproduzidos esquematicamente no gráfico 1.

GRÁFICO — 1



Procurou-se sempre eliminar do estudo os casos em que o diagnóstico de pneumonia era duvidoso, bem como aqueles em que se suspeitasse a existência de complicações (meningite, empiema, supuração pulmonar, etc.) que viessem falsear os resultados clínicos obtidos.

O caso 2 deste grupo (M.F.S.) foi erroneamente diagnosticado como de pneumonia lobar, ficando demonstrado mais tarde

tratar-se de um processo tuberculoso com evolução para escavação. Apesar disso, os níveis penicilínicos obtidos neste paciente foram aproveitados no trabalho, pois nesse particular não há diferença essencial entre o comportamento do pneumônico ou do portador de uma forma aguda de tuberculose, com febre de 39°C., como era o caso.

Quanto aos resultados obtidos neste grupo de pacientes, temos a considerar de um lado os níveis penicilínicos encontrados e de outro a evolução do processo pneumônico com a terapêutica.

Os níveis penicilínicos encontrados nos 12 casos do grupo são os constantes do quadro II, onde também se acham os valores médios para os diversos horários.

QUADRO II

GRUPO II		HORAS APÓS INJEÇÃO								
N.º	INICIAIS	0	1/2	1	3	9	12	18	24	36
1	G. H. S.	0	0,67	1,34	0,67	0,30	0,36	0,22	0,16	0,1
2	M. F. S.	0		1,50	0,67	0,67	0,36	-	-	-
3	J. M.	0	1,34	2,20	0,48	0,45	0,45	0,18	0,22	0,12
4	J. L.	0	0,67	0,90	0,64	0,36	0,22	0,32	0,60	0,67
5	B. V.	0	2,60	3,40	2,60	6,80	6,00	2,60	0,60	0,60
6	S. B.	0	1,70	1,50	0,67	0,55	0,38	0,28	0,12	0,06
7	D. A. M.	0	3,80	2,60	0,96	0,64	0,45	0,45	0,36	0,18
8	J. V.	0,36	2,30	1,70	0,67	0,55	0,45	0,24	0,18	0,12
9	J. d. G.	0	2,20	1,50	0,80	0,60	1,50	0,90	-	-
10	A. G.	0	2,56	2,20	1,60	1,24	0,90	0,45	0,24	0,00
11	B. C.	0	1,50	2,20	0,97	0,18	0,45	0,55	0,37	0,24
12	E. V. L.	0,12	1,24	1,24	0,67	0,45	0,60	0,24	0,12	0,06
MÉDIAS			1,85	1,77	0,82	0,55	0,45	0,35	0,26	0,20

O que inicialmente nos chama a atenção é o fato de em dois dos casos (8 — J.V., 12 — E.V.L.) ter sido demonstrada a presença de substâncias impiedentes no sangue circulante, antes da administração da preparação em estudo; de fato, os tubos testemunhas dosaram, respectivamente, 0,36 e 0,12 unidade/ml. Tal fato só pode ser explicado por medicação prévia, antes da vinda dos pacientes ao hospital, apesar de êstes doentes terem negado, como os demais, haver feito uso de medicação anti-infecciosa recentemente. Aliás, interrogatório neste sentido era feito sistematicamente em todos os casos, para evitar trabalho inútil. É de se notar que, por ocasião da entrada, ambos os pacientes apresentavam-se com quadro clínico grave, que em nada sugeria a ação de antibióticos, sendo suas temperaturas de 39,7 e 40,5°C. De qualquer forma, os níveis penicilínicos obtidos nestes pacientes não foram utilizados para os cálculos das médias nos vários

horários, sendo, entretanto, de notar que muito se aproximam daquilo que foi observado na generalidade dos casos. Queremos, ainda, referir que no caso nº 9 (J.d.G.) apenas são utilizáveis as dosagens de níveis até 9 horas, após o que, por engano da enfermagem, foram administradas 300.000 unidades de penicilina G-procaína por via intramuscular, as quais são responsáveis pelas taxas de 1,50 e 0,90 unidades/ml obtidas após 12 e 18 horas.

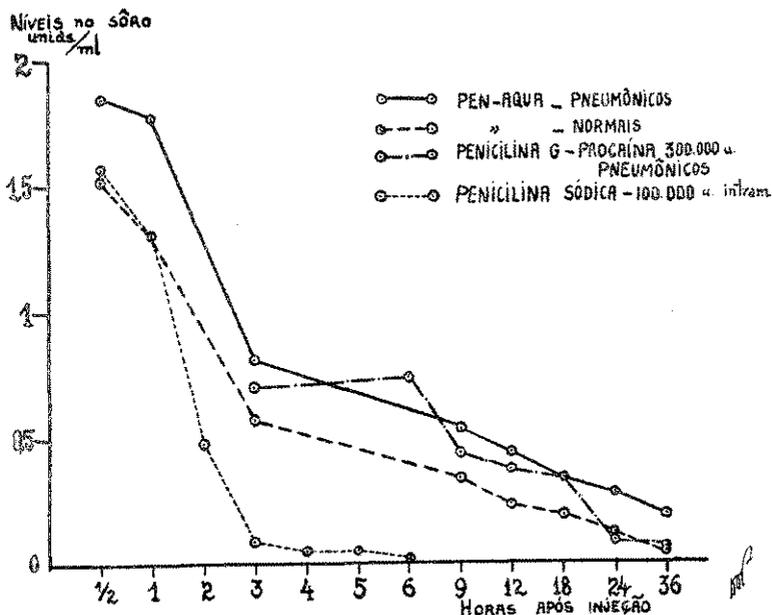
Ainda lembramos que os níveis observados no caso 5 (B.V.) não foram computados nos cálculos das médias, apesar de corresponderem a taxas reais e não provenientes de aplicações extemporâneas de antibióticos. Assim fizemos porque, como é fácil de ver consultando o quadro II, as taxas obtidas (perfeitamente explicáveis pelas condições do paciente), fogem totalmente ao comum e iriam influir no cálculo das médias no sentido de um aumento exagerado. Voltaremos a comentar a respeito quando tratarmos do aspecto clínico dêste caso.

Feitas estas ressalvas, notamos que os níveis penicilínicos do grupo II são bastante elevados. 1/2 e 1 hora após a injeção, apenas por 3 vezes deixou-se de obter mais de 1 unidade/ml; por 9 vezes chegou-se a mais de 2 unidades e por 2 vezes ultrapassou-se 3 unidades/ml. Daí em diante processou-se a queda gradual dos títulos, sendo, porém, ao fim de 24 horas, sempre encontrada penicilina dosável nos casos em que foram feitas dosagens dêste horário, ou sejam 10 casos. Chamamos a atenção para o fato de que naqueles casos em que os tubos testemunhas foram positivos, dificilmente é admissível que os níveis inicialmente observados viessem a influir nesta altura da observação. Das dosagens feitas após 36 horas, em número de 10, apenas 1 não revelou nível dosável, enquanto nas demais obteve-se de 0,06 a 0,67 unidade/ml.

No gráfico 2 estão reproduzidas curvas dos valores médios obtidos nos pacientes dos grupos I e II, e mais duas curvas que representam, respectivamente, os achados médios em 7 pneumônicos que receberam 300.000 unidades de penicilina G-procaína por via intramuscular, PENNA, ASHCAR e VIOTTI (1948), e os níveis obtidos em 2 pacientes que receberam 100.000 unidades de penicilina sódica, sendo um deles normal e o outro pneumônico.

Quanto à evolução do processo pneumônico nos pacientes dêste grupo, temos que foi ela totalmente favorável, com exceção do paciente B.V. (caso 5) que evoluiu para óbito dentro de 5 dias. A observação clínica e evolução dêste paciente são as seguintes:

GRÁFICO — 2



B. V. — sexo masculino — 29 anos — preto — brasileiro — procedente da Capital — internado em 4-10-1949.

ANAMNESE — O mau estado geral do paciente não permitiu a obtenção de detalhes sobre o início e evolução de sua doença. Disse estar doente há uns 10 dias, com febre, tosse, falta de ar. Há vários anos tinha uma "bronquite". Alcoólatra inveterado.

EXAME FÍSICO — Péssimo estado geral, muito abatido, magro, desidratado. Intensamente dispnéico.

Temperatura: 38,5°C. Pulso: 120/m Pr. Arterial: 120x80. Resp: 63. O exame do tórax revelou maior expansibilidade à esquerda, frêmito tóraco-vocal conservado à direita, macicez de todo o hemitórax direito com exceção de uma estreita faixa de sonoridade pulmonar na base. Sôpro tubário intenso, estertores, broncofonia aumentada e pectorilóquia áfona em todo o hemitórax direito.

QUADRO RADIOLÓGICO — Opacidade de quase todo o campo pulmonar direito (vide gráfico 1).

TRATAMENTO — Recebeu nas primeiras 36 horas 1 injeção do preparado em estudo (400.000 unidades), tendo depois disso sido repetida essa dose; 30 horas após a segunda injeção, passou-se a administrar penicilina sódica comum na dose de 50.000 unidades cada 3 horas, no músculo. Além disso, recebeu vitaminas, sêro glicofisiológico na veia, extrato de supra-renal e oxigênio.

EVOLUÇÃO — Nos dois primeiros dias observou-se queda da temperatura ao normal (vide gráfico 3) e melhora subjetiva moderada. A seguir

piovou novamente seu estado e no 5.^o dia faleceu, após nova ascensão febril (quando já se encontrava recebendo penicilina em doses de 50.000 unidades cada 3 horas).

NECROPSIA — “Congestão da leptomeninge e do parênquima nervoso encefálico. Bócio colóide difuso, moderado. Pneumonia em todos os lobos do pulmão direito, em hepatização cinzenta. Pneumonia focal do pulmão esquerdo. Congestão do fígado, baço e rins. Nos demais órgãos, nada digno de nota.”

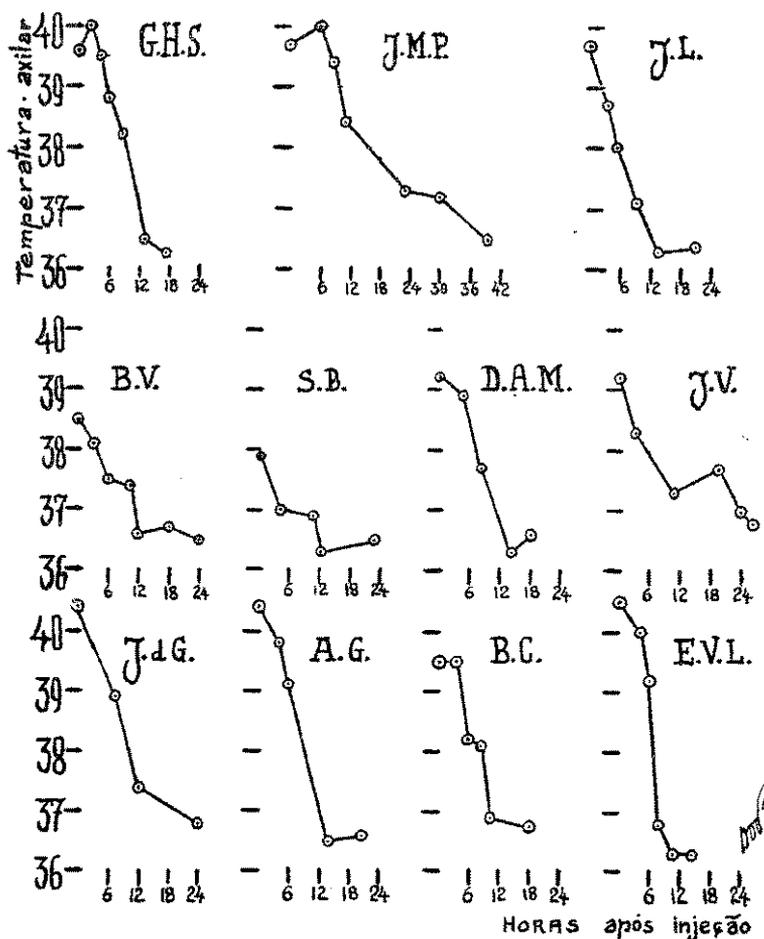
Dr. José Lopes de Faria

No caso dêste paciente, tratava-se de uma forma muito grave de pneumonia e acreditamos que qualquer outra forma de administrar penicilina não teria conseguido salvar o doente, pois os níveis conseguidos (vide quadro II) foram altíssimos. Tudo leva a crer que a má evolução dependeu não do método terapêutico e sim das próprias características de virulência do germe e da capacidade de defesa do paciente. Infelizmente não foi possível levar a cabo o exame bacteriológico de escarro, exame êsse que poderia, talvez, dar algum resultado de interesse.

Nos demais pacientes do grupo II, como já referimos, os resultados clínicos foram muito bons e em tudo podem ser comparáveis aos obtidos, em casos semelhantes, com a administração de sulfadiazina e penicilina (30.000 a 50.000 unidades cada 3 horas) por 4 a 5 dias. Como índice da atividade terapêutica do preparado em estudo temos o comportamento da febre que, como pode ser verificado no gráfico 3, cedeu quase constantemente dentro de 12 a 24 horas.

O critério para alta dos pacientes baseou-se principalmente na melhora e desaparecimento dos sinais e sintomas (dor pleural, expectoração hemoptóica, tosse, etc). De modo geral os pacientes ainda apresentavam, ao sair, sinais de condensação pulmonar: êstes, como é sabido, podem levar semanas até desaparecimento completo. Os pacientes que voltaram ao hospital para contrôle de evolução do processo apresentaram-se, sempre, em excelentes condições. Devemos notar, porém, que a maioria dêles não voltou para contrôle, apesar de têmos insistido junto a êles quanto à conveniência dessa volta. De qualquer forma, nenhum dos pacientes retornou ao hospital apresentando recidiva do processo pneumônico ou complicações de ordem local ou geral.

GRÁFICO — 3



COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

Os resultados das dosagens feitas permitem-nos algumas observações de certo interesse. Assim é que, nos indivíduos normais, os níveis obtidos nos diversos horários de colheita apresentam uma maior homogeneidade, quando comparados com os observados no grupo de pacientes pneumônicos. Aqui, as variações de caso para caso parecem ser bem maiores e podem, talvez, ser atribuídas a diferenças no estado de hidratação dos pacientes, conforme tempo de doença, regime alimentar em uso, etc.

Mais interessantes, ainda, são as diferenças observadas quanto aos níveis médios para cada horário de colheita, quando compara-

mos o grupo dos pneumônicos e o dos sãos. Naqueles as taxas são nitidamente mais altas, conforme demonstra bem o gráfico 2. Aliás, tal fato já tem sido verificado por vários autores: BOGER *et al.* (1948), BOGER e FLIPPIN (1949) e nós mesmos já tínhamos assinalado tal particularidade em trabalho anterior, PENNA, ASHCAR e VIOTTI (1948), no qual se usou a penicilina G-procaína isoladamente. Essa obtenção de níveis penicilínicos mais elevados nos pacientes febris e desidratados é de real importância e traduz um verdadeiro mecanismo de auxílio à terapêutica, pelo fornecimento de níveis mais elevados nos casos mais graves.

Outro aspecto para o qual devemos chamar a atenção é a ausência, nos 20 pacientes em que aplicamos a preparação, de fenômenos tóxicos atribuíveis à procaína. Como se sabe, SULLIVAN *et al.* (1948), para cada 300.000 unidades de penicilina correspondem aproximadamente 125 mg de procaína que, em indivíduos sensíveis, podem dar lugar a fenômenos tóxicos. Temos conhecimento de um caso bem comprovado de reação à procaína após administração de penicilina G-procaína e certamente outros casos aparecerão, mas na presente série de pacientes nenhum revelou qualquer sintomatologia nesse sentido.

Quanto à ação terapêutica da preparação, foi ela excelente nos nossos casos de pneumonia. Realmente, a resposta terapêutica, avaliada pela queda da temperatura e regressão da sintomatologia da doença, foi igual à que se obtém com qualquer dos métodos bem estabelecidos de tratamento da pneumonia lobar. O caso de óbito, que já foi referido com maiores detalhes anteriormente, foi exatamente aquele em que maiores títulos de antibiótico foram obtidos, motivo pelo qual o fracasso não pode ser atribuído ao método e sim às próprias condições precárias do paciente.

Evidentemente, um esquema de tratamento em que a penicilina é suspensa precocemente estará possivelmente sujeito a falhas, representadas por recidivas da pneumonia ou complicações outras, em número maior do que naqueles métodos em que o antibiótico é mantido por tempo longo. Entretanto, é interessante salientar um fato que poderá, até certo ponto, apoiar o método que temos experimentado. Assim é que WEINSTEIN e TSAO (1946) e KILBOURNE e LOGE (1948) verificaram que a terapêutica penicilínica inibe a produção de antistreptolisinas em certas infecções estreptocócicas, sendo que os últimos autores observaram, também, que a adminis-

tração descontínua de penicilina interferia consideravelmente menos com o desenvolvimento de antistreptolisinas que o tratamento contínuo. Até que ponto isto seria aplicável às infecções pneumocócicas no homem, é difícil avaliar por enquanto, embora estudos nesse sentido estejam em andamento; TOMPSETT *et al.* (1949).

A terapêutica penicilínica descontínua na pneumonia, que até certo ponto guarda relação com o método que temos estudado, vem sendo preconizada por autores como MARSHALL (1948) e tem sido aplicada com êxito. Como exemplo citaremos os resultados obtidos por TILLET, McCORMACK e CAMBIER (1945), PRICE (1948), TOMPSETT *et al.* (1949) e STRANDELL e LINDGREN (1949). Êsses últimos autores trataram 80 pacientes pneumônicos com doses de 200.000 a 250.000 unidades duas vêzes ao dia; os resultados foram exatamente iguais aos obtidos com a terapêutica contínua. Assim, é possível que a suspensão precoce da administração de antibióticos, como se fêz no método por nós empregado, possa facilitar o estabelecimento da defesa imunitária natural.

De qualquer forma, os resultados obtidos são sem dúvida bons e o método merece certamente ser experimentado mais extensivamente. De fato, uma maior experiência com o uso da dose inicial única no tratamento da pneumonia será necessária antes que possamos avaliar até que ponto o risco de recidivas e complicações é real.

Como conclusões finais, portanto, temos que:

1) A associação de 300.000 unidades de penicilina G-procaína e 100.000 unidades de penicilina potássica, administradas por via intramuscular, forneceu em todos os pacientes em estudo níveis elevados precoces (1/2 e 1 hora) e permitiu níveis dosáveis em todos após 24 horas e na grande maioria após 36 horas.

2) Nos pacientes pneumônicos os níveis obtidos foram significativamente mais elevados que nos indivíduos sãos.

3) Pelo menos a grande maioria dos pacientes portadores de pneumonia lobar não complicada podem ser curados com uma dose única de 400.000 unidades (300.000 de penicilina G-procaína e 100.000 de penicilina potássica).

RESUMO

Os Autores apresentam os resultados obtidos pela administração intramuscular da associação de 300.000 unidades de penicilina

G-procaína c 100.000 unidades de penicilina potássica a 20 pacientes distribuídos em 2 grupos (I e II).

O grupo I compreende 8 indivíduos normais ou com afecções dermatológicas sem repercussão geral; no grupo II estão 12 pacientes com o diagnóstico de pneumonia lobar. Os valores médios dos níveis penicilínicos obtidos no sôro (método de Fleming) são os seguintes:

Horas após a injeção	1/2	1	3	9	12	18	24	36
Grupo	1,52	1,31	0,58	0,35	0,24	0,20	0,13	0,06
Grupo II	1,85	1,77	0,82	0,55	0,45	0,35	0,29	0,20

Todos os pacientes pneumônicos, com uma exceção, foram curados apenas com a dose única da preparação, não mais recebendo penicilina. O único caso de óbito deu-se no 5.º dia, apesar de terapêutica anti-infecciosa adicional intensa; neste paciente, portador de uma forma muito grave da doença, foram obtidos níveis penicilínicos excepcionalmente altos no período inicial de 36 horas. É chamada a atenção para os níveis mais altos observados no grupo de pacientes pneumônicos, em comparação com o dos sãos.

SUMMARY

The Authors present the results obtained by the intramuscular administration of 300,000 units of procaine penicillin G plus 100,000 units of potassic penicillin to 20 patients, distributed in two groups (I and II). In group I there were 8 healthy adults and in group II there were 12 patients in which the diagnosis of lobar pneumonia had been established.

The average penicillin serum levels obtained (Fleming's method) were the following:

Hours after injection	1/2	1	3	9	12	18	24	36
Group I	1,52	1,31	0,58	0,35	0,24	0,20	0,13	0,06
Group II	1,85	1,77	0,82	0,55	0,45	0,35	0,29	0,20

In group II, a single dose of 400,000 units of the preparation produced complete cure in every case except one: this patient was in a very bad condition on admission and died on the 5th day, in spite of receiving intensive additional antibiotic therapy. The penicillin

serum levels obtained in this patient were strikingly high, throughout the first 36 hours.

The significantly higher levels obtained in group II patients are emphasized.

BIBLIOGRAFIA

- BOGER, W. P. *et al.* — 1948 — Procaine penicillin in oil. I. Plasma concentrations; preliminary observations on its use in pneumonia. *Am. J. Med. Sc.* 215: 250-256.
- BOGER, W. P. e H. F. Flippin — 1949 — Penicillin plasma concentrations. Increase and prolongation with carinamide and newer depot penicillin preparations. *J. Am. Med. Ass.* 139: 1131-1136.
- FLEMING, A. — 1942 — In vitro tests of penicillin potency. *Lancet* 1: 732-733.
- KILBOURNE, E. D. e J. P. Loge — 1948 — The comparative effects of continuous and intermitent penicillin therapy on the formation of antistreptolysin in hemolytic streptococcal pharyngitis. *J. Clin. Investigation* 27: 412.
- MARSHALL, Jr., E. K. — 1948 — Dosage schedules of penicillin in bacterial infections. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 82: 403-407.
- PENNA, D. O. *et al.* — A ser publicado.
- PENNA, D. O., H. Ashcar e M. R. Viotti — 1948 — Penicilina G-procaína: níveis sangüíneos e ação terapêutica. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 8: 48-77.
- PRICE, A. H. — 1948 — Aqueous penicillin therapy for pneumococcal pneumonia. Injections at twelve hour intervals. *J. Am. Med. Ass.* 138: 292-293.
- STRANDELL, B e L. Lindgren — 1949 — Förenklad penicillin-behandling vid internmedicinska sjukdomar huvudsakligen pneumonier (Discontinuous therapy with penicillin in internal diseases specially in pneumonia). *Svenska Läkartidningen* 46: 1021-1028. In *Excerpta Medica*, section VI, Internal Medicine, 1949, 3: 1718.
- SULLIVAN, N. P. *et al.* — 1948 — A new penicillin for prolonged blood levels. *Science* 107: 169-170.
- TILLET, W. S., J. E. McCormack e M. J. Cambier — 1945 — The treatment of lobar pneumonia with penicillin. *J. Clin. Investigation* 24: 589.
- TOMPSETT, R. *et al.* — 1949 — Discontinuous therapy with penicillin. *J. Am. Med. Ass.* 139: 555-560.
- WEINSTEIN, L. e C. C. L. Tsao — 1946 — Effects of types of treatment on development of antistreptolysin in patients with scarlet fever. *Proc. Soc. Exper. Biol & Med.* 63: 449-453.

SALMONELLA TYPHIMURIUM ISOLADA DE UM CASO DE MENINGITE CEREBROSPINAL.

OCTAVIO BARACCHINI

Do Instituto "Adolfo Lutz"
Laboratório Regional de Ribeirão Preto

O achado de salmonelas no líquido cefalorraquidiano não é comum. Daí acharmos interessante a apresentação do presente caso em que, além de uma salmonela, foram encontrados diplococos gram-negativos, morfològicamente semelhantes à *Neisseria intracellularis*.

Várias são as bactérias que podem provocar a infecção meningea. Entre nós, LUCAS DE ASSUMPTÃO, em 49 culturas positivas do líquido cefalorraquidiano, obteve os seguintes resultados: *N. intracellularis*, 73,4%; *D. pneumoniae*, 10%; *S. typhosa*, 6,1%; *H. influenzae*, 4%; *S. pyogenes*, 2%; *M. tuberculosis*, 2%; *N. perflava*, 2%.

CARVALHO LIMA (1932), em 474 casos suspeitos de meningite não se refere nenhuma vez a ter isolado salmonela do líquido cefalorraquidiano.

PESTANA e RUGAI (1940) encontraram, duas vezes, salmonelas no líquido cefalorraquidiano.

Informações pessoais de A. TAUNAY nos dão o registro de mais 6 casos de meningite salmonelósica.

Segundo BAHRENBURG e ECKER (1937) até 1937 somente 37 casos de meningite por salmonelas haviam sido registrados na literatura, dos quais somente em 19 o germe pôde ser classificado pelos caracteres biomorfológicos como sendo realmente uma salmonela.

BORNSTEIN, em 1943, fazendo uma revisão sobre o problema das salmonelas, diz: "There is no place in the human body where a Salmonella infection may not become localized".

De um líquido cefalorraquidiano, purulento, enviado ao Laboratório Regional do Instituto "Adolfo Lutz" de Ribeirão Preto, pelo Centro de Saúde local, cujo exame bacterioscópico revelou a

presença de diplococos gram-negativos, intra e extracelulares com caracteres morfológicos do meningococo e, também, a de raros bacilos gram-negativos, conseguimos isolar, após semeadura em bile-nutrose e passagem por placas de ágar-ácido rosólico e de ágar-eosina-azul de metileno, um germe gram-negativo, móvel, que pelas provas bioquímicas deveria ser considerado como sendo uma salmonela. Enviando a cultura ao Laboratório Central do Instituto "Adolfo Lutz" para ser identificada, o resultado foi confirmado e o exame sorológico mostrou ser o germe em questão uma *Salmonella typhimurium*.

Infelizmente não obtivemos cultura do diplococo encontrado no exame bacterioscópico, o que não nos permite assegurar tratar-se de um caso de infecção mista: (*S. typhimurium* e uma *Neisseria*, possivelmente a *intracellularis*).

PESTANA e RUGAI assinalaram um caso mais ou menos idêntico; apenas, o isolamento da salmonela verificou-se após a alta de uma infecção meningocócica. Seria, portanto, um caso de infecção secundária.

GUTHRIE e ANDERSON, em 1941, descrevem um caso em que a invasão das meninges por salmonela foi secundária à meningite meningocócica.

O que julgamos interessante e concluímos do nosso trabalho, é que devido ter-se evidenciado no exame bacterioscópico dois germes de espécies diferentes, embora não tenhamos obtido a cultura e identificação bioquímica e sorológica de um deles, pode-se aventar a hipótese de tratar-se de um caso de infecção mista das meninges.

RESUMO

O Autor descreve um caso de provável infecção mista das meninges (*Salmonella typhimurium* e uma *Neisseria*, possivelmente *intracellularis*), onde foi possível obter cultura somente da Salmonela.

SUMMARY

The Author suggests one case of mixed infection of the meninges (*Salmonella typhimurium* and a *Neisseria*, possibly *intracellularis*) where was possible to recover only the Salmonella by culture.

BIBLIOGRAFIA

- ASSUMPÇÃO, L. — *in* Bier, O., Bacteriologia e Imunologia: p. 300. 3.^a ed. S. Paulo, Melhoramentos, 1947.
- BAHRENBURG, J. H. e E. E. Ecker — 1937 — Meningitis due to organisms belonging to the Salmonella Group. *J. Infect. Dis.* **60**: 81-87.
- BORNSTEIN, S. — 1943 — The state of the Salmonella problem. *J. Immunol.* **46**: 439-496.
- GUTHRIE, K. J. e T. Anderson — 1941 — Double infection of the meninges with meningococcus and Gaertner's Bacillus. *Brit. M. J.* **1**: 193-194.
- LIMA, J. P. C. — 1932 — Meningites bacterianas em São Paulo. *An. Paul. Med. Cir.* **24**: 145-149.
- PESTANA, B. R. e E. Rugai — 1940 — Salmonelas isoladas de líquido cefalorraquidiano. *An. Paul. Med. Cir.* **39**: 373-378.
- TAUNAY, A. E. — Informação pessoal.

PENICILINA G — PROCAÍNA NA OPERAÇÃO CESÁREA: NÍVEIS SANGÜÍNEOS E AÇÃO TERAPÊUTICA.*

B. NEME

e

HASSIB ASHCAR

Da Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo

Do Instituto "Adolfo Lutz"

As vantagens da penicilino-terapia por doses maciças com aplicações a longos intervalos vêm sendo notadas em todos os meios hospitalares. Favorecendo de modo extraordinário a enfermagem vêm se firmando como norma terapêutica geral.

Dentre os vários métodos utilizados no sentido de favorecer a absorção e eliminação lentas da penicilina, conseguindo, dêsse modo, níveis sangüíneos estáveis e úteis, durante longo espaço de tempo, salientam-se: a refrigeração do local de aplicação, TRUMPER e HUTTON (1944, 1946); o emprêgo de drogas (caronamida) que reduzem a função renal de eliminação, mantendo o antibiótico por mais tempo na corrente sangüínea, CROSSON *et al.* (1947); a suspensão da penicilina cálcica em veículo oleoso, como o óleo de amendoim e a cêra de abelhas (fórmula de Romansky), ROMANSKY-MURPHY-RITTMAN (1945), ROMANSKY (1946) e ROMANSKY-RITTMAN (1947); a suspensão de uma associação de penicilina G e procaína em diversos veículos, tais como óleos vegetais, o monoestearato de alumínio, a água destilada e o sôro fisiológico, SULLIVAN *et al.* (1948); BOGER *et al.* (1948); WHITTLESEY-HEWITT, (1948); HEWITT, WHITTLESEY e KEEFER (1948); STOLLERMAN, ROSTON e TOHARSKY (1948) e finalmente PENNA, ASHCAR e VIOTTI (1948).

A reduzida ou nula reação local, o perigo remoto da introdução endovenosa da solução terapêutica, a facilidade de aplicação com seringas secas ou não, vão tornando preferidos os preparados cujo veículo seja o sôro fisiológico ou a água destilada.

* * *

Recebido para publicação em 14 de abril de 1950.

(*) Trabalho realizado na Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e no Instituto "Adolfo Lutz". Apresentado ao Quarto Congresso Brasileiro de Farmácia, realizado, em julho de 1950, em Salvador.

Em Clínica Obstétrica onde a terapêutica vem reduzindo a incidência e a gravidade das infecções puerperais, tornando esta condição clínica a segunda ou terceira em importância entre as causas de mortalidade materna, a aplicação de preparados como os referidos é de fundamental valor. Concorre para seu emprêgo a indicação de natureza profilática, e portanto de certo modo aleatória.

Em tais circunstâncias a aplicação de injeções repetidas, cada 3 horas, durante 2 — 4 dias freqüentemente é mal tolerada pelas pacientes. Mesmo no decurso do puerpério, após partos operatórios por via baixa e principalmente por via alta, temos ouvido queixas quando indicamos a terapêutica penicilínica, repetida cada 3 horas, como medida profilática.

Como na Clínica Obstétrica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Serviço do Prof. Raul Briquet) a penicilino-terapia profilática é obrigatória em tôdas as cesáreas, resolvemos utilizar, sistematicamente, os preparados de penicilina G — procaína cada 12 horas, nas doses de 300.000 e 400.000 unidades.

No que diz respeito à concentração sangüínea resolvemos também fazer dosagens repetidas, procurando demonstrar que no pós-operatório da intervenção cesárea a concentração sangüínea pode ser útil e aceitável, segundo as normas acima referidas.

OBSERVAÇÕES

Fizemos dez observações de pacientes cesareadas, das quais, seis da Clínica Obstétrica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Serviço do Prof. Raul Briquet) e quatro de nossa clínica particular.

Utilizamos-nos da penicilina G associada à procaína e diluída em água destilada. O preparado empregado foi o "Wycillin" da Fontoura — Wyeth S. A.*

As curvas de concentração sangüínea poderão ser verificadas a seguir, salientando para os fins de contrôle, que as concentrações de 0,04 — 0,2 unidades por centímetro cúbico de sôro sangüíneo são reconhecidas como suficientes para ação terapêutica útil contra os microrganismos sensíveis à penicilina, OLDHAM, KELSEG e GEILING (1947). Raramente se exigem concentrações superiores às que acabamos de referir.

(*) Agradecemos à Fontoura-Wyeth S.A. a gentileza com que nos atenderam fornecendo-nos o material necessário para a realização destas observações.

Em seis de nossas observações empregamos o "Wycillin" na dose de 300.000 unidades e em três empregamos o "Wycillin R", no qual às 300.000 unidades de penicilina G — procaína se associam 100.000 unidades de penicilina cálcica. Finalmente numa delas se empregou simplesmente a penicilina cálcica. As aplicações foram feitas inicialmente cada 12 horas e depois, para os fins de observação, cada 24 horas, segundo a técnica recomendada, por via intramuscular.

A seguir, em períodos diversos, conforme os gráficos e quadros o demonstram, foram colhidas assépticamente amostras de sangue para dosagens de níveis penicilínicos. O material assim colhido foi levado imediatamente ao refrigerador onde permaneceu até o momento das dosagens. Estas em número de nove, foram realizadas no Instituto "Adolfo Lutz", pelo método biológico das diluições seriadas em tubos, descrito por FLEMING (1942). Como germe de prova utilizou-se a cultura padrão de *Staphylococcus aureus* H. Por êste método, a taxa mínima dosável no sôro é de 0,04 unidades por mililitro. As dosagens da primeira observação foram realizadas pelo Dr. Aderbal Cunha, no Laboratório do Hospital das Clínicas, pelo mesmo método.

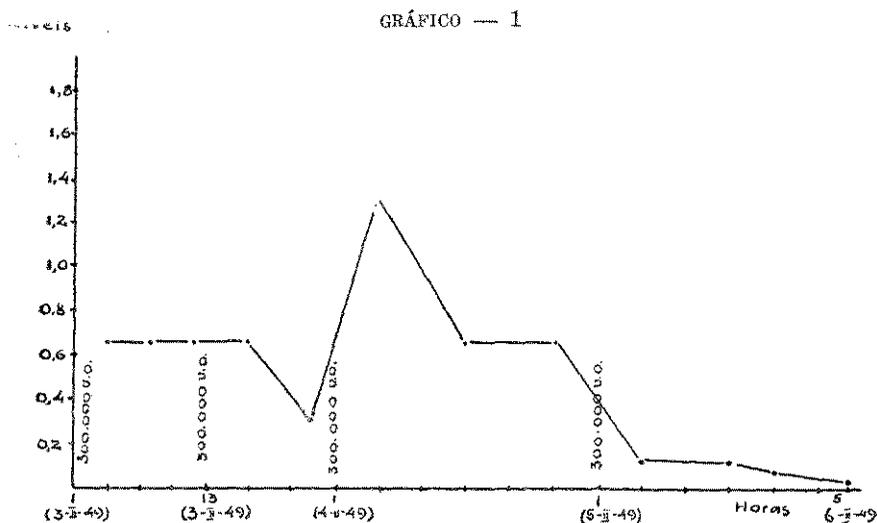
Num único caso (observação N.º 3) a penicilinoterapia foi realizada por injeções de penicilina cálcica nas doses de 50.000 unidades cada 3 horas. Esta paciente estava internada e sendo submetida à terapêutica penicilínica, na dose referida, para fins antilúéticos. No decurso dêste tratamento instalou-se o trabalho de parto cuja resolução exigiu a operação cesárea. A fim de não alterarmos a observação de terapêutica anti-sifilítica, não modificamos a posologia da penicilina.

OBSERVAÇÃO N.º 1

Papeleta 8.094. M. R., 22 anos, branca, brasileira. Operação cesárea às 23,30 de 2-2-49. À 1 hora de 3-2-49 aplicou-se 300.000 unidades de penicilina G — procaína (1cm³) por via intramuscular. Repetiu-se esta dose, pela mesma via, quatro vêzes, num total de 1.500.000 unidades no seguinte horário: às 13 horas de 3-2-49 (intervalo de 12 horas); à 1 hora de 4-2-49 (intervalo de 12 horas) e à 1 hora de 5-2-49 (intervalo de 24 horas).

Os níveis penicilínicos sangüíneos obtidos podem ser observados no gráfico e no quadro N.º 1.

Nos gráficos que se seguem as abscissas indicam as horas decorridas após a aplicação da penicilina e as ordenadas o nível penicilínico no sôro sangüíneo.



DIA	Horas	Concentração sangüínea	Aplicação de penicilina
3-II-49	3	0,64	à 1 hora 300.000 unidades
	7	0,64	
	11	0,64	às 13 horas 300.000 unidades
	17	0,64	
	23	0,32	
4-II-49	5	1,28	à 1 hora 300.000 unidades
	13	0,64	
	21	0,64	
5-II-49	5	0,16	à 1 hora 300.000 unidades
	13	0,16	
	21	0,08	
6-II-49	5	0,04	— — —

QUADRO — 1

Considerações: Cesárea por vício pélvico após 44 horas de trabalho de parto. Bolsa róta artificialmente há 12 horas. Puerpério (pós-operatório) afebril. Alta, curada, no 9.º dia. Deve-se salientar que nas primeiras 24 horas a paciente foi fortemente hidratada pela administração de 3.000 cm³ de sôro glicofisiológico. Após êste período permaneceu sem ingerir líquidos ou alimentos de espécie alguma durante quase 12 horas. Êste fato justifica o alto

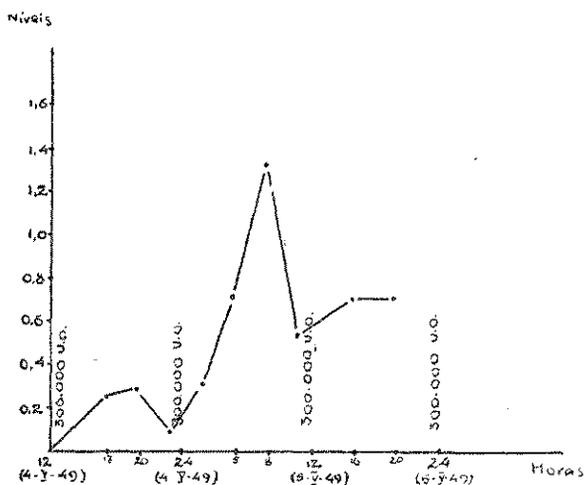
nível sanguíneo verificado às 5 horas de 4-2-49, porquanto mais de 60% da penicilina introduzida no organismo por via parenteral é eliminada pela urina, SOLLMANN (1948). Cerca de 28 horas após a última aplicação de 300.000 unidades de penicilina o nível sanguíneo era de 0,04.

OBSERVAÇÃO N.º 2

Papeleta 7.471. M. J. R., 16 anos, branca, brasileira. Operação cesárea às 10,30 horas de 4-5-49. Às 12 horas dêste mesmo dia aplicou-se 300.000 unidades de penicilina G — procaína (1cm³) por via intramuscular. Esta dose foi repetida mais três vezes, num total de 1.200.000 unidades, assim distribuídas: às 24 horas de 4-5-49 (intervalo de 12 horas); às 12 horas de 5-5-49 (intervalo de 12 horas) e às 24 horas dêste mesmo dia (intervalo de 12 horas).

Os níveis penicilínicos sanguíneos obtidos foram os que se vêm no gráfico e no quadro N.º 2.

GRÁFICO — 2



DIA	Horas	Concentração sangüinea	Aplicação de penicilina
4-V-49	17	0,22	às 12 horas 300.000 unidades
	20	0,24	
	23	0,16	às 24 horas 300.000 unidades
5-V-49	2	0,26	
	5	0,67	5h- 50.000 unidades
	8	1,28	12h-300.000 unidades
	11	0,45	
	16	0,67	
	20	0,67	24h-300.000 unidades

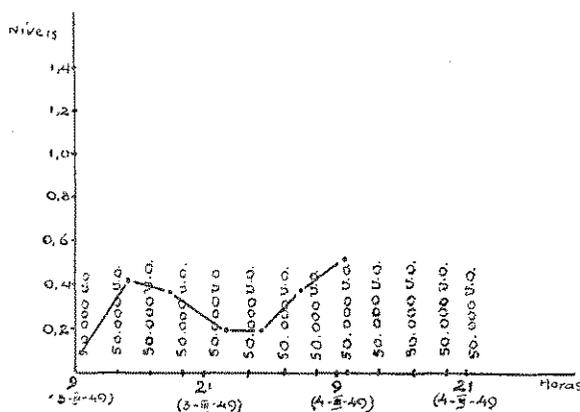
QUADRO — 2

Considerações: Cesárea por desproporção cefalopélvica após 82,30 horas de trabalho de parto e igual tempo de rotura das membranas. Paciente assistida previamente por curiosa que praticou numerosos toques sem luva. Infecção intra-parto. Puerpério (pós-operatório) afebril. Alta, curada, no 8.º dia. Deve-se salientar no gráfico a alta concentração penicilínica encontrada às 8 horas de 5-5-49 e que se relacionou à administração indevida de 60.000 unidades de penicilina cálcica às 7 horas dêsse dia.

OBSERVAÇÃO N.º 3

Papeleta 7.214. M. C., 33 anos, branca, brasileira. Operação cesárea às 10,15 horas de 3-3-49. A penicilinoterapia que vinha sendo feita há mais de 36 horas nas doses de 50.000 unidades cada três horas, foi mantida ininterruptamente até completar os 4.000.000 de unidades indicados no tratamento antilúético. Os níveis sangüíneos podem ser apreciados no gráfico e no quadro N.º 3.

GRÁFICO — 3



D I A	Horas	Concentração sangüínea	Aplicação de penicilina
3—III—49	9,50	0,08	50.000 unidades às 10, 13, 16, 19 e 22 horas
	14	0,40	
	18	0,36	
	22	0,18	
4—III—49	2	0,18	50.000 unidades às 1, 4, 7, 10, 13, 16, 19 e 22 horas
	6	0,36	
	10	0,55	

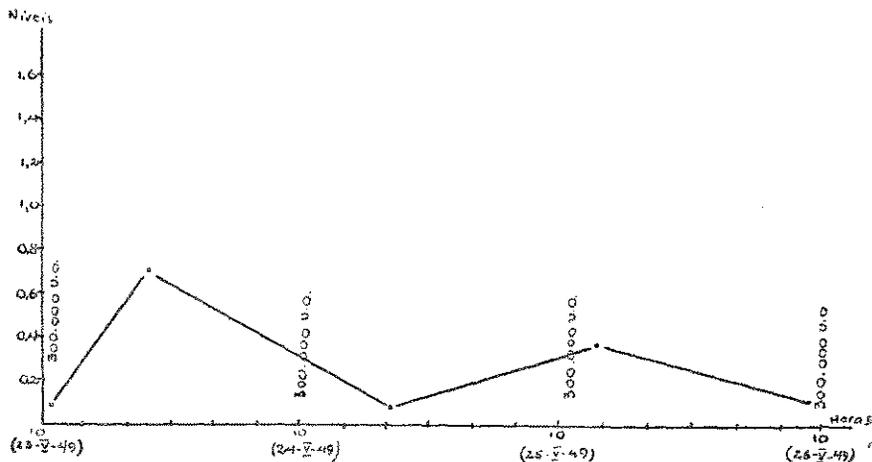
QUADRO — 3

Considerações: Este gráfico demonstra que logo após a operação cesárea a concentração sangüínea de penicilina ascendeu, relacionando-se êste fato à falta de ingestão de líquidos conseqüente ao ato cirúrgico. Neste caso não se fêz terapêutica pelas soluções cristalóides. Deve-se notar que no sangue colhido do cordão umbilical, por ocasião da extração fetal, a concentração de penicilina atingiu 0,08. O pós-operatório foi afebril e a paciente teve alta, curada, no 10.º dia.

OBSERVAÇÃO N.º 4

O. M. A., 32 anos, branca, brasileira. Operação cesárea às 9 horas de 23-5-49. Às 10 horas dêste mesmo dia aplicou-se 300.000 unidades de penicilina G — procaína, repetindo-se esta mesma dose às 10 horas de 24-5-49 (24 horas de intervalo); às 11 horas de 25-5-49 (25 horas de intervalo) e às 10 horas de 26-5-49 (23 horas de intervalo). Os níveis sangüíneos encontrados se vêem no gráfico e no quadro N.º 4.

GRÁFICO — 4



DIA	Horas	Concentração sangüinea	Aplicação da penicilina
23-V-49	11	0,09	300.000 unidades às 10 horas
	20	0,67	
24-V-49	18,30	0,06	10h - 300.000 unidades
25-V-49	13,40	0,36	11h - 300.000 unidades
26-V-49	9	0,14	16h - 300.000 unidades

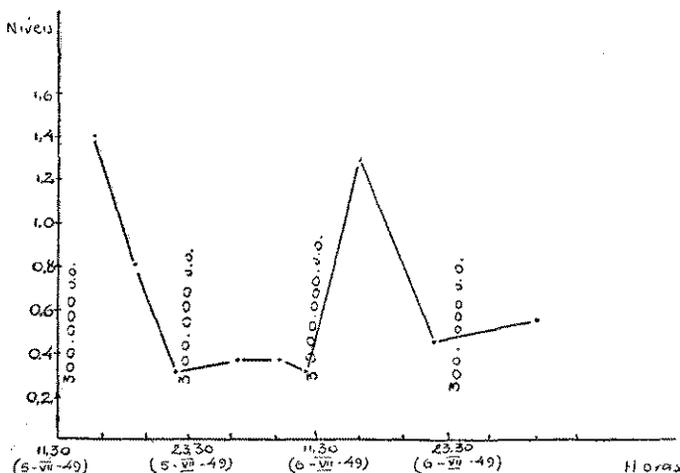
QUADRO — 4

Considerações: O gráfico demonstra que a concentração máxima foi obtida nas primeiras 12 horas, quando é máxima a concentração sangüinea à vista das condições de desidratação. Observa-se que às 9 horas de 26-5-49 ou seja 23 horas após a última aplicação de 300.000 unidades de penicilina G — procaína, a concentração sangüinea de penicilina atingia ainda 0,14 por cm³.

OBSERVAÇÃO N.º 5

Papeleta 7.709. J. C., 23 anos, preta, brasileira. Operação cesárea às 11 horas de 5-7-49; às 11,30 dêste dia aplicou-se 300.000 unidades de penicilina G — procaína (por via intramuscular), repetindo-se esta terapêutica três vezes, ou seja às 23,30 do mesmo dia (12 horas de intervalo), às 11,30 (12 horas de intervalo) e às 24 horas de 6-7-49 (12,30 horas de intervalo). Os níveis sangüneos de penicilina atingidos se vêem no gráfico e no quadro N.º 5.

GRÁFICO — 5



D I A	Horas	Concentração sangüinea	Aplicação de penicilina
6-VII-49	14	1,40	11,30 — 300.000 unidades
	18	0,80	
	22	0,30	23,30 — 300.000 unidades
6-VII-49	4	0,36	
	8	0,36	11,30 — 300.000 unidades
	11	0,30	
	16	1,28	24,00 — 300.000 unidades
	22	0,45	
7-VII-49	6	0,55	— — —

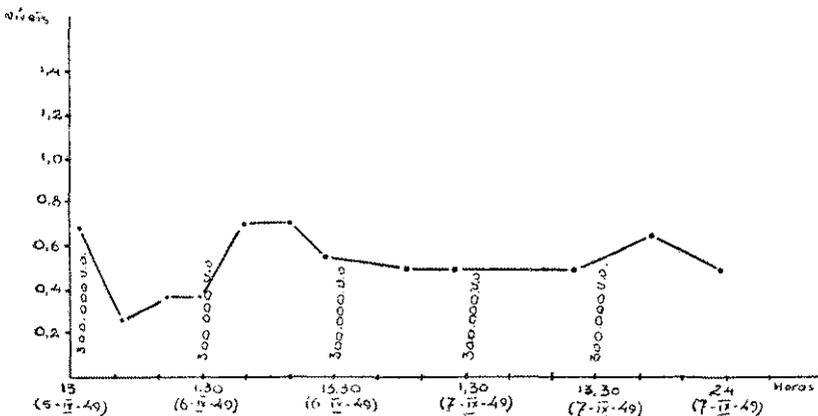
QUADRO — 5

Considerações: Cesárea por desproporção cefalopélvica após 44,30 horas de trabalho de parto e com 30 horas de bolsa rôta. Puerpério subfebril. Alta, curada, no 18.º dia. Estado geral mau. Anemia. Taxa de hemoglobina 55%. O gráfico demonstra que após 11 e 12 horas da aplicação da penicilina G — procaína, a concentração sangüinea ainda atingiu 0,30 e 0,36, respectivamente.

OBSERVAÇÃO N.º 6

Papeleta 7.620. A. G., 23 anos, branca, brasileira. Operação cesárea às 9,30 horas de 5-9-49. Às 13 horas dêsse dia aplicou-se a primeira dose de 300.000 unidades de penicilina G — procaína, por via intramuscular. Repetiu-se esta dose quatro vêzes, num total de 1.500.000 unidades assim distribuídas: às 1,30 e 13,30 horas de 6-9-49 e às 1,30 e 13,30 horas de 7-9-49 (intervalos de 12 horas). Os níveis sangüíneos de penicilina obtidos se encontram no gráfico e no quadro N.º 6.

GRÁFICO — 6



DIA	Horas	Concentração sangüinea	Aplicação de penicilina
5-IX-49	14	0,67	13h - 300.000 unidades
	18	0,26	
	22	0,36	
6-IX-49	1	0,36	1,30h - 300.000 unidades
	5	0,57	
	9	0,67	13,30h - 300.000 unidades
	12,30	0,55	
	20	0,45	
24	0,45		
7-IX-49	11	0,45	1,30h - 300.000 unidades
	18	0,62	
	24	0,45	13,30h - 300.000 unidades

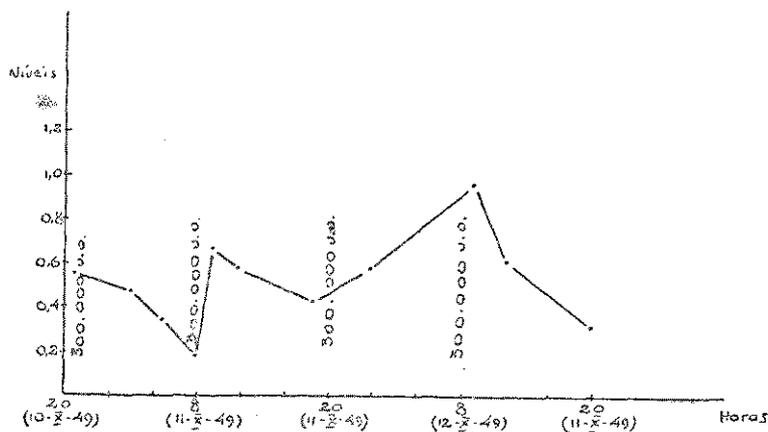
QUADRO — 6

Considerações: Cesárea por desproporção cefalopélvica após 38 horas de trabalho de parto. Puerpério afebril. Alta no 8.º dia. O gráfico demonstra que a concentração de penicilina no sangue foi muito regular e satisfatória. Deve-se notar que após 10 horas da aplicação de 300.000 unidades de penicilina ainda se encontravam níveis elevados como 0,45.

OBSERVAÇÃO N.º 7

A. G., 24 anos, parda, brasileira. Operação cesárea às 19,15 horas de 10-10-49. Às 20 horas dêsse dia aplicou-se a primeira dose de 300.000 unidades de penicilina G — procaína, por via intramuscular. Repetiu-se esta dose, pela mesma via, às 8 e 20 horas de 11-10-49 e às 8 horas de 12-10-49. Os níveis sangüíneos de penicilina podem ser examinados no gráfico e no quadro N.º 7.

GRÁFICO — 7



D I A	Horas	Concentração sangüínea	Aplicação de penicilina
10-X-49	21	0,55	20h - 300.000 unidades
11-X-49	2	0,45	8h - 300.000 unidades
	5	0,32	
	8	0,16	
	9	0,64	
	12	0,56	
	24	0,40	
12-X-49	9,30	0,96	8h - 300.000 unidades
	12	0,64	
	20	0,32	

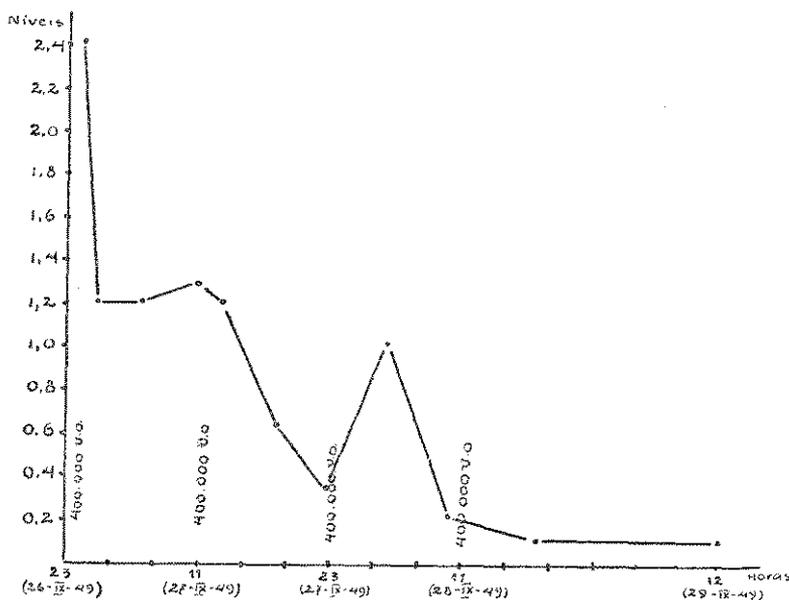
QUADRO — 7

Considerações: Cesárea por vício pélvico após 18 horas de trabalho de parto e 12 horas de bolsa róta. Pós-operatório subfebril. Alta no 9.º dia em boas condições.

OBSERVAÇÃO N.º 8

A. S. S., 26 anos, parda, brasileira. Operação cesárea às 22 horas de 26-9-49. Às 23 horas aplicou-se 400.000 unidades de penicilina das quais 100.000 da cálcica e 300.000 de G — procaína ("Wycillin R"). Esta dose foi repetida mais três vezes num total de 1.600.000 unidades assim distribuídas: às 11 e 23 horas de 27-9-49 e às 11 horas de 28-9-49 (intervalo de 12 horas). Os níveis sangüíneos encontrados se vêm no gráfico e no quadro N.º 8.

GRÁFICO — 8



D I A	Horas	Concentração sangüinea	Aplicação de penicilina
26--IX--49	24	2,40	23h - 400.000 unidades
27--IX--49	2	1,20	11h - 400.000 unidades 23h - 400.000 unidades
	6	1,20	
	11	1,28	
	13	1,20	
	18	0,60	
28--IX--49	4	1,0	11h - 400.000 unidades
	10	0,22	
	18	0,12	
29--IX--49	12	0,12	— — —

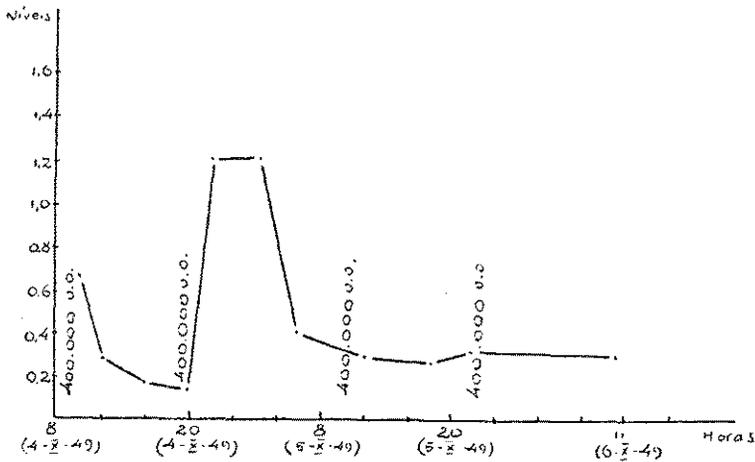
QUADRO — 8

Considerações: Cesárea por distócia cervical após 17,30 horas de trabalho de parto. Rotura das membranas precoce e há 115 horas. Puerpério afebril. Alta no 8.º dia. Nota-se neste gráfico os elevados níveis de concentração penicilínica sangüinea obtidos, alcançando um máximo de 2,40, uma hora após a primeira aplicação de 400.000 unidades. É interessante observar os altos níveis iniciais se reduzirem muito após 24 horas da operação, o que se relaciona à ingestão normal de líquidos e à diluição sangüinea e eliminação urinária conseqüentes.

OBSERVAÇÃO N.º 9

Papeleta 8.094. A. C. C., 26 anos, brasileira, branca. Operação cesárea aos 35 minutos de 4-10-49. Às 8 horas dêste mesmo dia aplicou-se a primeira dose de 400.000 unidades, das quais 100.000 de penicilina cálcica e 300.000 de penicilina G — procaína ("Wycilin R"). Esta dose foi repetida às 20 horas de 4-10-49 (intervalo de 12 horas) e às 10,30 (intervalo de 14,30 horas) e 22 horas de 5-10-49 (intervalo de 11,30 horas), num total de 1.600.000 unidades. Os níveis sangüíneos obtidos podem ser vistos no gráfico e no quadro N.º 9.

GRÁFICO — 9



D I A	Horas	Concentração sangüinea	Aplicação de penicilina
4-X-49	10	0,67	8h - 400.000 unidades
	12	0,28	
	16	0,16	
	20	0,14	20h - 400.000 unidades
	22	1,20	
5-X-49	2	1,20	10,35h - 400.000 unidades
	6	0,40	
	10,15	0,28	
	18	0,20	22h - 400.000 unidades
	22	0,30	
6-X-49	11,30	0,28	— — —

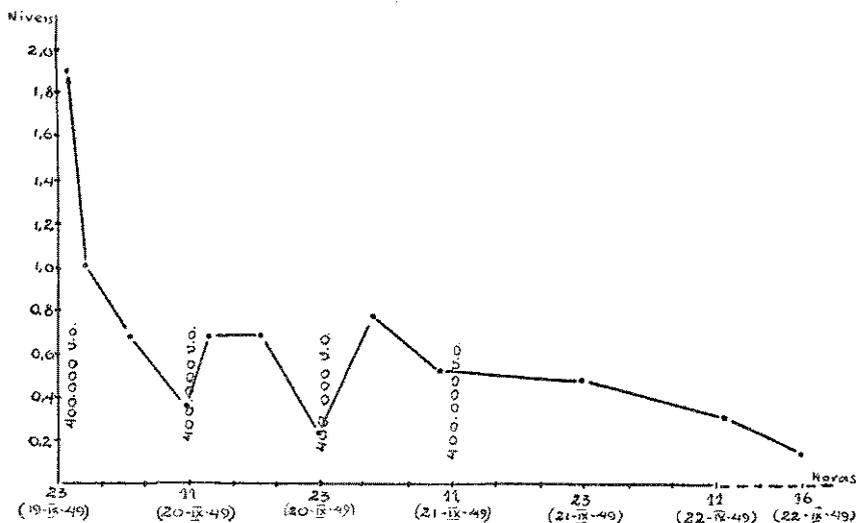
QUADRO — 9

Considerações: Cesárea por vício pélvico após 6 horas de trabalho de parto. Puerpério afebril. O gráfico 9 demonstra como é rápida a absorção da "Wycillin R" porquanto os níveis sangüíneos são particularmente elevados nas primeiras horas após a aplicação da injeção.

OBSERVAÇÃO N.º 10

G. E., 30 anos, branca, brasileira. Cesárea às 19 horas de 19-9-49. Às 23 horas de 19-9-49 aplicou-se a primeira dose de "Wycillin R" (400.000 unidades). Repetiu-se esta terapêutica às 11 e 23 horas de 20-9-49 e às 11 horas de 21-9-49 (intervalos de 12 horas), num total de 1.600.000 unidades. Os níveis sangüíneos obtidos se encontram no gráfico e no quadro N.º 10.

GRÁFICO — 10



D I A	Horas	Co ncentração sangüínea	Aplicação de penicilina
19—IX—49	24	1,90	23h - 400.000 un dades
20—IX—49	2	1,00	11h - 400.000 unidades 23h - 400.000 unidades
	6	0,67	
	11	0,36	
	13	0,67	
	18	0,67	
21—IX—49	23	0,22	11h - 400.000 unidades
	4	0,76	
	10	0,56	
22—IX—49	23	0,45	— — —
	12	0,33	
	16	0,14	

QUADRO — 10

Considerações: Cesárea por prolapso do cordão após 16 horas de trabalho de parto. Puerpério afebril. Alta no 8.º dia, em boas condições. O gráfico demonstra mais uma vez os altos níveis rapidamente alcançados após a administração da penicilina cálcica (100.000 unidades) associada à penicilina G — procaína (300.000 unidades). Verificamos que uma hora após a primeira injeção de "Wycillin R" a concentração sanguínea atingiu 1,90 e após 29 horas da última aplicação ainda tínhamos um nível sangüíneo de 0,14.

DISCUSSÃO

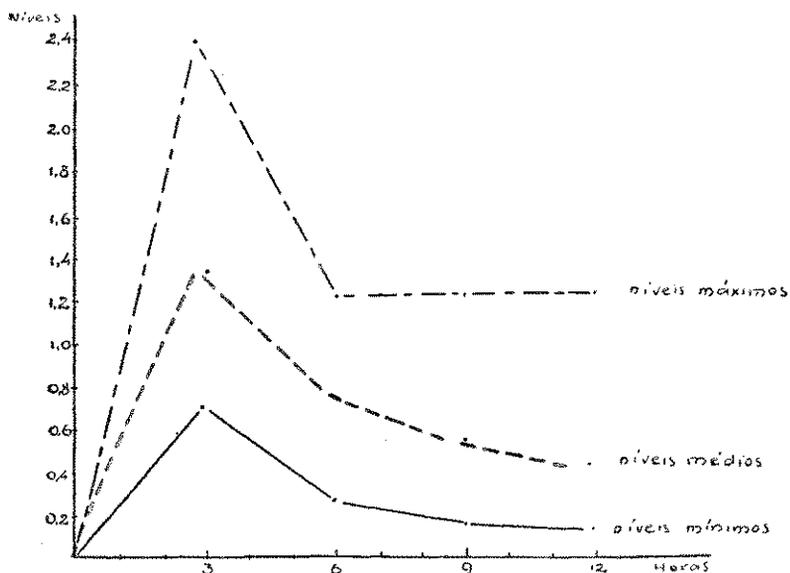
Nossas observações podem ser divididas em três grupos. O primeiro consta de seis casos, nos quais se empregou 300.000 unidades de penicilina G — procaína diluída em água destilada (“Wycillin”); o segundo compreende três pacientes nas quais se aplicou penicilina G — procaína associada à penicilina cálcica 100.000 unidades (“Wycillin R”) e finalmente o terceiro constando de uma única observação em que se manteve a terapêutica pela penicilina cálcica.

A análise dos gráficos demonstra as vantagens da associação da penicilina cálcica à penicilina G — procaína (“Wycillin R”) sobre esta última isoladamente (“Wycillin”). Por outro lado o emprêgo da penicilina G — procaína, isoladamente, nas doses de 300.000 unidades, cada 12 horas, condicionou melhor concentração sangüínea que a obtida pela aplicação de penicilina cálcica em doses de 50.000 unidades cada três horas.

Verificamos pela administração da penicilina G — procaína que a concentração sangüínea atinge níveis elevados, de ação terapêutica indiscutível, 1 — 2 horas após a injeção. Dêsse modo pode-se dispensar praticamente a administração associada por via venosa. Este fato foi evidente, de modo particular, quando se empregou o “Wycillin R” ou seja a associação de 100.000 unidades de penicilina cálcica com 300.000 unidades de penicilina G — procaína.

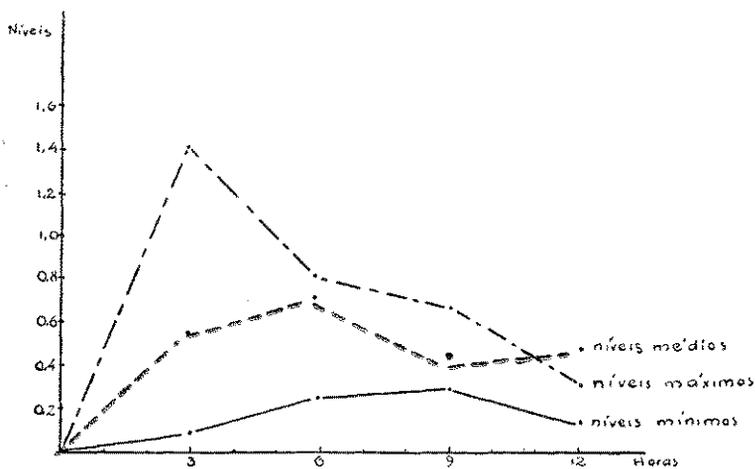
Procurando resumir em gráficos os níveis sangüíneos mínimos, máximos e médios obtidos durante a terapêutica pela penicilina G — procaína simples e a associação desta com a penicilina cálcica obtivemos as seguintes curvas:

GRÁFICO — 11



ASSOCIAÇÃO DE PENICILINA G-PROCAÍNA E PENICILINA CÁLCICA.

GRÁFICO — 12



PENICILINA G-PROCAÍNA

RESUMO

Os A. A., ressaltam as vantagens da penicilinoterapia por doses maciças com aplicações a longos intervalos, salientando a facilidade de aplicação e a tolerância das pacientes em receberem a droga para fins profiláticos. Observaram a ação terapêutica em dez operações cesáreas realizadas na Clínica Obstétrica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Serviço do Prof. Raul Briquet), onde seu emprêgo para fins profiláticos é de regra.

Controlaram os níveis sangüíneos obtidos em dosagens praticadas no Instituto "Adolfo Lutz", de São Paulo, utilizando-se do método biológico das diluições seriadas em tubo, descrito por FLEMING (1942).

Os A. A. concluem:

a) A penicilinoterapia por doses maciças com aplicações a longos intervalos tem ação terapêutica evidente;

b) Os níveis sangüíneos constatados permitem afirmar que a penicilinoterapia por doses maciças com aplicações a longos intervalos produz níveis sangüíneos constantes como a penicilinoterapia por doses moderadas aplicada a intervalos curtos;

c) A associação da penicilina cálcica à penicilina G — procaína promove absorção mais rápida e concentração mais elevada que a penicilina G — procaína isoladamente;

d) A rapidez de absorção da penicilina cálcica associada à penicilina G — procaína dispensa a associação terapêutica por via venosa.

RÉSUMÉ

Les Auteurs font réhausser les avantages de la penicillinothérapie avec des doses massives, et applications espacées. Ils mettent en évidence la facilité d'application et la tolérance montrée par qui ont reçu le médicament dans un but prophylatique. Ils ont observé l'action thérapeutique dans dix opérations césariennes, réalisées à la Clinique Obstétrique de la Faculté de Médecine de l'Université de São Paulo (Service du Prof. Raul Briquet), où on employe régulièrement cette action prophylatique.

Les concentrations de l'antibiotique dans le sang ont été contrôlées par des essais exécutés par l'Instituto "Adolfo Lutz" (La-

boratoire Central de Santé Publique, de São Paulo) qui a employé la méthode biologique des dilutions em série, décrit par Fleming.

Les Auteurs ont arrivé aux conclusions suivantes:

a) La pénicillinothérapie par doses massives avec des applications à long intervalle a une indiscutable action thérapeutique;

b) Les concentrations dans le sang vérifiées, permettent soutenir que la penicillinothérapie par doses massives à long intervalle mènent à des concentrations actives constantes comme celles obtenues avec les doses modérées à des intervalles plus brefs;

c) L'association de la pénicilline calcique à la penicilline G — procaine permet une absorption plus rapide et une concentration plus grande que la pénicilline G administrée seule;

d) La rapidité de l'absorption de la pénicilline calcique associée à la pénicilline G — procaine permet à la thérapeutique de se passer de la voie veineuse.

SUMMARY

According to the Authors penicillin therapy is well tolerated and easily administered in large doses, applied at lengthy intervals for prophylactic purposes. Its therapeutic action was studied in 10 patients who had undergone Cesarean Section in the Obstetrical Clinic of the Faculty of Medicine of the University of São Paulo (Prof. Raul Briquet's Department), where the prophylactic usage of this drug is routine.

Control of the blood level by the biological methods consisting of a series of dilution in tubes, as described by Fleming, was carried out in the Instituto "Adolfo Lutz" of São Paulo.

The following are the conclusions:

a) There is no doubt as to the value of penicillin therapy in large doses administered at lengthy intervals;

b) The blood level values encountered in massive dose penicillin therapy given at lengthy intervals allow the Authors to conclude these are as constant as those found on the application of moderate doses of the drug at short intervals;

c) The association of calcium — penicillin with penicillin G — procaine causes quicker absorption and a higher blood level value than does the isolated penicillin G — procaine;

d) The rapid absorption of calcium penicillin with penicillin G — procaine makes intra-venous therapy unnecessary.

ZUSAMMENFASSUNG

Die A. A. heben die Vorteile der Penicillintherapie durch massive Dosen in langen Abständen hervor, zeigen die leichte Anwendbarkeit und die gute Toleranz der Patientinnen, dieser Substanz gegenüber, bei prophylaktischer Anwendung.

Sie beobachteten die therapeutischen Resultate in zehn Kaiserschnitt-Fällen die in der Obstetrischen Klinik der Medizinischen Fakultät São Paulo (in Prof. Raul Briquet's Abteilung) stattgefunden haben, wo diese Anwendung prophylaktische Regel ist.

Sie kontrollierten die Wirkung mittels Blutproben, welche in Instituto "Adolfo Lutz" in São Paulo, nach der von Fleming beschriebenen biologischen Methode der serienweisen Verdünnungen in Tuben, analysiert wurden.

Die A. A. schlossen daraus folgendes:

a) die Penicillintherapie durch massive Dosen, in langen Abständen appliziert, hat eine unwiederrufliche therapeutische Aktion.

b) die festgestellten Blutspiegel lassen Klar erkennen, dass die obengenannte Penicillintherapie genau so gleichmässige Blutspiegel gibt wie die Penicillintherapie durch kleine Dosen in kurzen Abständen.

c) die Mischung Kalzium-Penicillin und Penicillin G — Procain gab eine schnellere Absorption als die alleinige Anwendung von Penicillin G — Procain.

d) die schnelle Absorption der Mischung Kalzium — Penicillin und Penicillin G — Procain macht das venöse therapeutische Verfahren überflüssig.

BIBLIOGRAFIA

- BOGER, W. P. *et al.* — 1948 — Procaine penicillin in oil-Plasma concentrations; preliminary observations on its use in pneumonia. *Am. J. Med. Sc.* 215: 250-256.
- CROSSON, J. W. *et al.* — 1947 — Caronamide for increasing penicillin plasma concentrations in man. *J. Am. Med. Ass.* 134: 1528-1532.
- FLEMING, A. — 1942 — In vitro tests of penicillin potency. *Lancet* 1: 732-733.
- HEWITT, W. L., P. E. Whittlesey e C. S. Keefer — 1948 — Serum concentrations of penicillin following the administration of crystalline procaine penicillin G in oil. *New England J. Med.* 239: 286-290.

- OLDHAN, F. H., F. E. Kelsey e E. M. K. Geiling — Essentials of Pharmacology. Philadelphia, Lippincott Co., 1947.
- PENNA, D. O., H. Ashcar e M. R. Viotti — 1948 — Penicilina G-Procaína: Níveis sanguíneos e ação terapêutica. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 3: 48-77.
- ROMANSKY, M. J. — 1946 — The current status of calcium penicillin in beeswax and peanut oil: data from a study of 600 cases and clinical observations of 400 patients given 60.000 injections. *Am. J. Med.* 1: 395-411.
- ROMANSKY, M. J., R. J. Murphy e G. E. Rittman — 1945 — Single injection treatment of gonorrhoea with penicillin in beeswax-peanut oil. *J. Am. Med. Ass.* 128: 404-407.
- ROMANSKY, M. J. e G. E. Rittman — 1947 — Penicillin blood levels following single intramuscular injection of calcium penicillin in beeswax and peanut oil. *New England J. Med.* 233: 577-582.
- SOLLMANN, T. — A Manual of Pharmacology and its applications to therapeutics and Toxicology. Philadelphia, Saunders Co., 1948.
- STOLLERMAN, G. H., E. H. Roston e B. Toharsky — 1948 — A guide to the use of procaine penicillin in hospital practice. *New York State Med.* 84: 2501-2505.
- SULLIVAN, N. P. *et al.* — 1948 — A new penicillin for prolonged blood levels. *Science* 107: 169-170.
- TRUMPER, M. e A. M. Hutton — 1944 — Prolonging effective penicillin action. *Science* 100: 432; *J. Am. Med. Ass.* 1946, 130: 627-630.
- TRUMPER, M. e A. M. Hutton — 1946 — Prolonging effective penicillin action. *J. Am. Med. Ass.* 130: 627-630.
- WHITTLESEY, P. e W. L. Hewitt — 1948 — Serum concentrations of penicillin following administration of crystalline procaine penicillin G in aqueous suspension. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 68: 658-661.

TIPAGEM DE SALMONELAS NO LABORATÓRIO DE SAÚDE PÚBLICA.*

JOSÉ ROBERTO CARNEIRO NOVAES, ANGUSTO DE E. TAUNAY e
SYLVIO SOARES DE ALMEIDA

Do Instituto "Adolfo Lutz"

O conceito de patogenicidade das Salmonelas tem sofrido profundas alterações desde que o gênero foi criado por Lignières em homenagem a Salmon. Durante muito tempo reinou grande confusão sobre a ação patogênica destes germes para o homem e animais. Somente depois dos estudos sobre a constituição antigênica, estudos esses que permitiram uma análise sorológica capaz de separar tipos distintos, perfeitamente diferenciados entre si, é que o assunto foi se tornando mais claro e melhor estudado. O primeiro passo nesse sentido foi dado em 1910 por experimentadores do Instituto de Higiene da Universidade de Kiel com a criação da Doutrina de Kiel, que dividiu a Salmonelas em 2 grupos: umas adaptadas à espécie humana e outras aos animais. As Salmonelas humanas, bacilo da febre tifóide e os bacilos paratíficos A, B e C são altamente patogênicos para o homem, bastando poucos germes para produzir a infecção. Esta é em geral grave, com invasão do organismo, enfim o quadro tífico clássico.

Muito diferente é o comportamento para o homem das Salmonelas do 2.º grupo, as adaptadas aos animais: são pouco virulentas, praticamente não existindo o contágio inter-humano direto. A mortalidade é baixa, não havendo septicemia. O processo infeccioso localiza-se no tubo gastrintestinal, causado pela ingestão de alimentos contaminados, e somente uma grande massa de germes é capaz de produzi-lo. A moléstia não se manifesta em forma epidêmica, sendo raros os portadores de germes.

Já os animais, mostrando-se pouco sensíveis às salmonelas humanas, são altamente suscetíveis às que lhes são próprias sendo freqüentes as epizootias com quadro semelhante ao da febre tifóide humana.

Recebido para publicação em 15 de abril de 1950.

(*) Trabalho apresentado no Departamento de Patologia da Associação Paulista de Medicina, sessão de 18 de julho de 1949.

Tudo estava estabelecido e aceito nesta base, quando apareceram os trabalhos de Hormaeche e colaboradores, realizados em Montevidéu, por volta de 1936. Êstes autores não invalidaram a Doutrina de Kiel em relação aos adultos, continuando ela a interpretar a contento os fatos observados.

Porém o conceito da patogenicidade das Salmonelas de origem animal sofreu profundas alterações. Demonstraram os pesquisadores de Montevidéu que as crianças apresentam uma grande sensibilidade às salmonelas de origem animal.

A sintomatologia das salmoneloses infantis é bastante variada. Em geral o início da moléstia é lento e insidioso como nas formas tíficas, ou manifesta-se de um modo brusco e violento, com vômitos, abundantes dejeções e grande desidratação, como nas intoxicações alimentares.

Em muitos casos os sintomas são precedidos de angina, não sendo raro isolar-se das fezes e do rinofaringe o mesmo tipo de Salmonela. As localizações extra-intestinais são bastante freqüentes, não sendo a enterite manifestação obrigatória. Vários casos de anginas, otites, septicemias, meningites, endo e pericardites, sinusites, pielonefrites, têm sido descritos com ausência de sintomatologia entérica. A mortalidade nas crianças é bastante alta, contrastando com a relativa benignidade do processo quando atinge o adulto.

Em resumo, após a divulgação da Doutrina de Montevidéu ficou estabelecido o seguinte: 1.º) na criança são comuns as complicações extra-entéricas; 2.º) a localização intestinal não é obrigatória, havendo casos extra-entéricos primários; 3.º) a maior sensibilidade das crianças para as salmonelas animais condiciona facilidade de contágio, e alta mortalidade.

Não se conhece ainda uma definição de Salmonela que inclua todos os característicos do grupo e abranja tôdas as exceções.

Quando nos referimos a elas empregamos o termo de acôrdo com a definição do Comitê de Salmonelas da Associação Internacional de Microbiologia, que só aceita os caracteres antigênicos próprios do grupo, achando que as propriedades bioquímicas, embora muito importantes, não são suficientes para incluir uma espécie no gênero.

As propriedades antigênicas das Salmonelas dependem de certos fenômenos de variação a que êsses bacilos estão sujeitos.

Possuem dois tipos de antígenos, somático e flagelar, que diferem em suas características físicas, cada um dêles estimu-

lando *in vivo* seu próprio anticorpo e reagindo exclusivamente com êle.

O antígeno flagelar H é termolábil, sendo progressivamente inativado em temperatura acima de 60°C. Suas propriedades aglutinogênicas são destruídas após aquecimento a 100°C. durante uma hora, ou pelo contacto com ácidos e álcool. Em presença de anticorpos correspondentes são aglutinadas, rapidamente, em flocos grandes e fofos prontamente desfeitos mediante uma agitação não muito intensa.

As Salmonelas podem apresentar dois tipos de antígenos flagelares: fase I e fase II, designados respectivamente por letras minúsculas e algarismos arábicos. Algumas espécies encerram apenas antígenos flagelares de uma fase, sendo denominadas monofásicas. Nos tipos difásicos uma das fases pode estar temporariamente suprimida.

O antígeno somático O, simbolizado por algarismos romanos, resiste à ação dos ácidos e do álcool, e um aquecimento prolongado a 100°C não afeta suas propriedades aglutinogênicas. Reage com suas aglutininas muito mais lentamente que o antígeno H, dando origem, entretanto, a grumos granulosos que dificilmente se desfazem.

Baseado nas propriedades dos seus antígenos torna-se possível a obtenção de soros monovalentes que permitem a identificação dos vários tipos.

O caminho certo a seguir quando se pretende a tipagem de uma Salmonela depende da cuidadosa interpretação de provas bioquímicas e sorológicas do organismo suspeito. Alguns testes bioquímicos devem ser executados preliminarmente, com o intuito de afastar de início um grande número de germes que não possuem os atributos bioquímicos do gênero. As amostras restantes são então submetidas a provas sorológicas, o único meio que nos permite uma tipagem exata e segura.

Vejamos, muito sumariamente, a marcha por nós seguida no Instituto "Adolfo Lutz".

Chegado ao laboratório é o material semeado imediatamente em dois tubos, um contendo glicerina-cloreto de sódio a 30% e o outro tetracionato de Kauffmann. São meios preservativos e de enriquecimento. A emulsão em glicerina-cloreto de sódio fica em temperatura ambiente cêrca de 30 minutos, sendo semeada nos meios seletivos de eosina-azul de metileno de Holt-Harris-Teague e ágar SS. O tubo de tetracionato de Kauffmann vai para a es-

tufa a 37°C., só sendo passado para as placas seletivas depois de incubado 24 horas. As colônias suspeitas são inoculadas no tríplice açúcar de Krumwiede modificado com a inclusão de sulfato ferroso para a produção de H₂S, o que, após uma incubação de 24 horas em estufa, muitas indicações pode fornecer. Havendo produção de ácido e gás na base, com ou sem produção de H₂S, serão utilizados os seguintes meios diferenciais: dextrose, lactose, sacarose, sorbita, água peptonada para verificação do indol, meio de Clark-Lubs para acetilmetilcarbinol, meio de Simmons para verificar a utilização do citrato, meio de Stuart para desdobramento da uréia, caldo comum para verificação de movimento e um tubo de ágar comum inclinado para eventuais provas sorológicas.

Esta série de meios permite diferenciar a maior parte das vezes uma *Salmonela*, dos *Proteus* e *Paracoli* que freqüentemente se comportam no tríplice açúcar de maneira idêntica às *Salmonelas*.

Tôdas as culturas que acidificam a dextrose e sorbita com produção de gás, produzem H₂S, não alteram a lactose e sacarose, utilizam o citrato, não produzem indol e acetilmetilcarbinol, não hidrolizam a uréia e são móveis, devem ser consideradas bioquimicamente como *Salmonelas*.

Algumas dessas reações são tardias. Assim é que muitos germes só hidrolizam a uréia em 48 horas. A pesquisa de acetilmetilcarbinol deve ser feita em 24 horas e 5 dias. A acidificação da lactose e sacarose algumas vezes só se processa em 20 dias, devendo os tubos serem arrolhados com borracha ou cortiça para apressar a reação.

Eliminam do gênero a acidificação da lactose ou sacarose, a produção de indol, de acetilmetilcarbinol e a hidrólise da uréia.

Os germes que bioquimicamente se comportarem como *Salmonelas*, são emulsionados em solução fisiológica e feita a aglutinação em lâmina com dois soros polivalentes, um somático e outro flagelar. O primeiro é preparado com várias amostras de *Salmonelas* para que contenha aglutininas somáticas que reajam com todos os tipos.

O soro polivalente flagelar é também produzido com todos os antígenos H específicos e inespecíficos, do qual se retira por saturação as aglutininas somáticas.

Obtendo-se aglutinação rápida e evidente em ambos os soros damos um resultado provisório de *Salmonela* sp.

Iniciamos então a identificação específica desses germes, que pode ser conseguida como demonstraremos, com um pequeno número de soros somáticos e flagelares devidamente purificados por saturação ou diluição.

O antígeno somático é primeiramente identificado, usando-se oito soros puros O, representando os principais grupos do esquema de White-Kauffmann.

Os soros somáticos empregados são devidamente diluídos ou absorvidos, possuindo apenas aglutininas capazes de reagirem com os antígenos específicos de cada grupo. Usamos soros por nós denominados A, B, C₁, C₂, D, E₁, E₂, E₃, contendo respectivamente aglutininas II-IV, V-VII-VIII-IX-X, XXVI-XV e XIX.

Praticamos as aglutinações em placa usando antígenos preparados pelo método de White que consiste na emulsão dos germes em 1cc de álcool absoluto, aquecimento a 60°C. durante 1 hora, sedimentação por centrifugação, sendo em seguida o álcool decantado, os bacilos resuspenso em 0,5cc. de salina normal e filtrados em algodão. Este método é particularmente útil para o exame de colônias ligeiramente rugosas. A aglutinação é rápida processando-se, em geral, dentro de 1 minuto.

As culturas que não aglutinaram nos 8 soros descritos são posteriormente testadas com os soros somáticos restantes. Depois de identificados os antígenos somáticos recorreremos ao esquema de Kauffmann para verificar quais os antígenos flagelares que podem ocorrer em combinação com os antígenos O da cultura examinada.

Freqüentemente torna-se dispensável a pesquisa de todos os antígenos flagelares do grupo, porquanto apenas alguns tipos são comumente encontrados.

Se por exemplo, o organismo é membro do grupo B, provavelmente será *S. paratyphi B* ou *S. typhimurium*. Portanto é lógico experimentar o germe inicialmente com fatores b e i para a fase específica, 2 e 3 para a não específica, antes de testá-lo para os antígenos dos membros mais raros.

No preparo dos soros flagelares deve ser levada em conta uma série de requisitos. É extremamente importante que somente formas bem móveis sejam usadas, pois os antígenos H estão associados com os flagelos.

A motilidade pode ser ativada com repiques sucessivos em ágar semi-sólido.

Na produção dos soros flagelares procuramos empregar quando possível apenas raças monofásicas. Isto, porém, às vezes é impraticável, sendo necessário obtermos uma fase de um tipo difásico, para ser usada como antígeno. Usamos um método rápido e seguro descrito por Gard, que consiste em semear a raça difásica na parte superior de um tubo de ágar semi-sólido contendo pequena quantidade de sôro aglutinante capaz de reagir especificamente com a fase que se deseja suprimir. Esta é dessa forma imobilizada e a outra difunde-se no ágar semi-sólido. Fundindo-se a parte superior do meio na chama obtém-se no fundo do tubo a fase desejada.

Os soros derivados de uma fase induzida contêm uma pequena quantidade de aglutininas para a fase suprimida. Devem ser purificados por diluição ou saturação.

As aglutinações flagelares são praticadas em tubos. Os antígenos usados são culturas em caldo, de germes móveis, diluído com igual volume de salina formolada a 0,6%. Os tubos são colocados em banho-maria a 50°C. durante 1 hora e então lidos.

Usando o método que acabamos de descrever conseguimos identificar 216 salmonelas isoladas no Instituto "Adolfo Lutz", entre 1942 e 1948. Encontramos 17 tipos diferentes.

Verificamos que a espécie de maior incidência entre nós é a *S. newport*, isolada 63 vezes com uma porcentagem de 29,1%. *S. anatum* vem em seguida, isolada 40 vezes com 18,5%. Identificamos, ainda, 19 *S. typhimurium* com porcentagem de 8,7%; 15 *S. butantan* e *give* com 6,9% e 14 *S. paratyphi B* com 6,4%. Os tipos de menor incidência que encontramos são os seguintes, citados na ordem de freqüência: *S. derby*, *reading*, *panama*, *oranienburg*, *bredeney*, *paratyphi A*, *london*, *scfttenberg*, *minnesota*, *gaminara* e *montevideo*.

Trabalhos publicados em nosso meio por um de nós e por Peluffo e colaboradores confirmam os resultados que obtivemos relativamente à freqüência das principais Salmonelas.

Para identificação das raças por nós isoladas foram necessários apenas 8 soros somáticos, 10 flagelares específicos e 5 flagelares inespecíficos. Os primeiros já descrevemos anteriormente. Dos flagelares específicos usamos a, b, d, eh, fg, gms, gst, i, lv, e mt. E dos inespecíficos 2, 3, 5, 6 e 7.

Este método dá resultados perfeitamente satisfatórios para trabalhos de rotina que exigem testes rápidos e simples.

Concluimos, portanto, afirmando ser possível uma tipagem segura das principais Salmonelas encontradas em nosso meio, com o emprêgo de um reduzido número de soros aglutinantes.

RESUMO

Os Autores referem-se inicialmente ao conceito de patogenicidade das Salmonelas, segundo as doutrinas de Kiel e de Montevideu. Após considerações sobre os antígenos somáticos e flagelares descrevem a técnica que usam no Instituto "Adolfo Lutz", para o isolamento e identificação das Salmonelas. Os germes que se enquadram, bioquimicamente, dentro do gênero são emulsionados em solução salina, sendo feita aglutinação em lâmina com dois soros polivalentes, um somático e outro flagelar, contendo respectivamente aglutininas O e H capazes de reagirem com tôdas as espécies de Salmonelas.

Para a identificação específica, os Autores empregam pequeno número de soros somáticos e flagelares, devidamente purificados por saturação ou diluição.

Dêsse modo, conseguiram tipar 216 amostras, encontrando 17 tipos diferentes. Verificaram que as espécies de mais incidência entre nós são as seguintes, citadas na ordem de freqüência: *S. newport*, *S. anatum*, *S. typhimurium*, *S. butantan*, *S. give* e *S. paratyphi*.

SUMMARY

The Authors refer primely to the idea of pathogenicity of the Salmonella. After making considerations about the somatic and flagellated antigens, they describe the technique used in the Instituto "Adolfo Lutz" for the isolation and identification of the Salmonella. The organisms which by their biochemical characteristics are classified in this genus are emulsionated in a saline solution. A slide test with two polyvalent sera is performed, containing respectively agglutinins O and H able of reacting with all types of Salmonella.

For the typing the Authors used a small number of somatic and flagellated sera, duly purified by saturation or dilution.

Thus the Authors typed 216 strains, obtaining 17 different types. They verified that the most common species among us are the following, named in the order of frequency: *S. newport*, *S. anatum*, *S. typhimurium*, *S. butantan*, *S. give* and *S. paratyphi*.

BIBLIOGRAFIA

- BARNES, L. A. — 1947 — O gênero *Salmonella* e salmoneloses. *São Paulo Médico* 2: 271-292.
- BORMAN, E. K. e K. M. Wheeler — 1943 — *Salmonella* typing in a Public Health Laboratory. *Am. J. Pub. Health* 33: 127-134.
- BORNSTEIN, S. — 1943 — The state of the *Salmonella* problem. *J. Immunol.* 46: 439-496.
- EDWARDS, P. R. e D. W. Bruner — 1942 — Serological identification of *Salmonella* cultures. *Ky. Agr. Exp. Station Circular* 54: 1-35.
- EDWARDS, P. R. e D. W. Bruner — 1943 — The occurrence and distribution of *Salmonella* types in the United States. *J. Infect. Dis.* 72: 58-67.
- FELSENFELD, O. e V. M. Young — 1945 — A polyvalent serum for the diagnosis of *Salmonella*. *J. Lab. & Clin. Med.* 30: 550-551.
- HAJNA, A. A. e S. R. Damon — 1950 — Polyvalent *Salmonella* "H" agglutination as a rapid screening test for *Salmonella* organisms. *Pub. Health Rep.* 65: 116-118.
- HORMAECHE, E., C. A. Peluffo e P. L. Aleppo — 1936 — Nueva contribucion al estudio etiologico de las diarreas infantiles de verano. *Arch. Urug. de Med., Cir. y Especialidades* 9: 113-162.
- HORMAECHE, E. et al. — 1947 — Nuevos estudios sobre las diarreas infantiles de origem infeccioso. *An. Inst. Higiene de Montevideo* 1: 33-45.
- KAUFFMANN, F. e P. R. Edwards — 1947 — A simplification of the sorologic diagnosis of *Salmonella* cultures. *J. Lab. & Clin. Med.* 32: 548-553.
- PELUFFO, C. A., P. R. Edwards e D. W. Bruner — 1942 — A group of coliform bacilli serologically related to the genus *Salmonella*. *J. Infect. Dis.* 70: 185-192.

SÔBRE O VALOR DA DOSAGEM DE ESQUALENO EM ÓLEOS VEGETAIS.

MARIA ELISA WOHLERS DE ALMEIDA

Do Instituto "Adolfo Lutz"

Há três anos, aproximadamente, o Instituto "Adolfo Lutz" introduziu nos seus processos de rotina a determinação de esqualeno para a identificação do óleo de oliva e sua dosagem em misturas.

Foi TSUJIMOTO (1906) o primeiro a mencionar a presença de esqualeno, um hidrocarboneto insaturado, no óleo de fígado de tubarão. O esqualeno foi mais tarde encontrado no óleo de fígado de outros peixes, principalmente da família *Squalidae*.

Posteriormente o esqualeno foi também encontrado em óleos vegetais, tendo sido isolado por THORBJARNESEN e DRUMMOND, (1935), na parte insaponificável do óleo de oliva.

FITELSON (1943) também encontrou êsse hidrocarboneto em outros óleos vegetais, porém em quantidade muito pequena.

A dosagem do esqualeno por cromatografia foi desenvolvida por Fitelson, trabalhando com óleo de oliva. Êstes trabalhos abriram caminho para a resolução de um dos mais preocupantes problemas da bromatologia: a dosagem de óleo de oliva quando em mistura com outros óleos vegetais. O método de Fitelson, descrito como tentativa, em 1945, no "Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists", foi, em 1948, tornado oficial.

MATERIAL

Determinamos o esqualeno em óleos de oliva, em outros óleos vegetais e em misturas de óleos recebidos para análise pelo Instituto "Adolfo Lutz" durante o período de 1948-1949.

MÉTODO *

A determinação do esqualeno foi feita no filtrado cromatográfico do extrato etéreo da parte insaponificável do óleo. O processo, segundo FITELSON (1943), é o seguinte:

Material:

Balança analítica
 Frasco Erlenmeyer de 125 ml
 Pipeta de 5 ml
 3 cilindros graduados de 50 ml
 Refrigerante de refluxo
 Bico de Bunsen e tela de amianto
 2 funis de separação
 Béquer de 250 ml
 Banho-maria

Coluna
 de
 adsorção

Colocar uma pequena porção de algodão na parte final afunilada de um tubo de vidro de 0,8 cm de diâmetro interno e 30 cm de comprimento. Adicionar óxido de alumínio adsorvente, em 10 pequenas porções, até alcançar uma coluna de 10 cm de altura. Comprimir, levemente, com uma vareta de vidro de ponta chata, cada porção de óxido de alumínio e aplicar ligeira sucção. Colocar pequena porção de algodão no alto da coluna e comprimir levemente. Lavar a coluna com 15 ml de éter de petróleo e retirar por sucção. Conservar a parte superior da coluna coberta com pequena camada de éter de petróleo até o momento de usar. (Preparar uma coluna nova para cada determinação, imediatamente antes de usar.)

Frasco Erlenmeyer com rôlha esmerilhada
 Algodão
 Trompa de água ou outro aparelho de sucção
 2 buretas de 30 ml
 2 pipetas de 5 ml
 Vareta de vidro, pinça, suportes.
 Frasco lavador com água destilada

(*) Agradecemos a valiosa cooperação de D. Idelma Ribeiro de Faria na execução das análises.

Reagentes:

Solução concentrada de { Hidróxido de potássio 60 g
 hidróxido de potássio { Água 40 ml

Alcool etílico a 95%

Éter de petróleo (P.E. 63-70° C)

Solução diluída de hi- { Hidróxido de potássio 28 g
 dróxido de potássio { Água até completar 1000 ml

Corrente de gás carbônico

Óxido de alumínio adsorvente — 80-200 mesh — (alumina de adsorção para análise cromatográfica, Fisher Scientific Co., Pittsburgh, Pa., ou equivalente. Conservar em recipiente bem fechado, longe de umidade.)

Clorofórmio

Solução de bromo sulfato de piridina 0,1 N	}	A	Bromo 8 g
			Ácido acético glacial (99,5%) 20 ml
	}	B	Piridina 8,15 ml
			Ácido acético glacial 20 ml

Adicionar gradualmente, com resfriamento, 5,45 ml de ácido sulfúrico (D = 1,84).

Misturar as soluções A e B, esfriar e completar o volume de 1000 ml com ácido acético glacial.

Solução de iodeto de potássio a 10%

Dissolver 13 g de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) em água isenta de CO_2 e contendo 1% de álcool amílico. Diluir a um litro, agitar e filtrar. Titular com solução de iodato de potássio 0,05 N (1,7835 g/l) da seguinte maneira: Transferir 10 ml de solução de iodeto de potássio a 10% e 2 g de bicarbonato de sódio para um frasco Erlenmeyer de 125 ml com rêsma esmerilhada. Adicionar, vagarosamente, 5 ml de ácido clorídrico aproximadamente 6 N. Lavar as paredes do frasco com 5 ml de água. Agitar. Adicionar 25 ml da solução de iodato de potássio. Lavar as paredes do frasco e titular rapidamente com a solução de tiosulfato de sódio 0,05 N. Usar solução de amido a 1% como indicador, quase no fim da titulação.

Solução de amido a 1%

Técnica:

Pesar 5 g da amostra em um frasco Erlenmeyer de 125 ml. Adicionar 3 ml da solução concentrada de hidróxido de potássio e 20 ml de álcool etílico a 95%. Adaptar ao frasco um refrigerante de refluxo. Ferver por 30 minutos em bico de Bunsen, agitando o frasco ocasionalmente. Esfriar um pouco e, enquanto ainda quente, adicionar 50 ml de éter de petróleo. Agitar. Transferir para um funil de separação de 500 ml. Lavar o frasco com 20 ml de álcool etílico a 95% e depois com 40 ml de água. Transferir os líquidos de lavagem para o mesmo funil de separação. Agitar vigorosamente. Deixar em repouso até completa separação das camadas. Retirar vagarosamente a solução de sabão. Transferir o extrato de éter de petróleo, pela boca do funil, para outro funil de separação de 500 ml contendo 20 ml de água. Repetir a extração da solução de sabão com 50 ml de éter de petróleo. Agitar, vagarosamente, os extratos reunidos com os 20 ml de água. Deixar em repouso até que as camadas se separem. Retirar a água de lavagem. Repetir a lavagem agitando, vigorosamente, com 20 ml de água. Retirar a camada aquosa. Adicionar 20 ml da solução diluída de hidróxido de potássio. Agitar. Retirar a camada aquosa. Lavar, sucessivamente, com porções de 20 ml de água, agitando depois de cada adição, até que a água de lavagem não dê reação alcalina. Transferir o extrato de éter de petróleo, pela boca do funil de separação, para um béquer de 250 ml. Lavar o funil de separação com 10 a 15 ml de éter de petróleo. Aquecer em banho-maria até que quase todo o solvente tenha evaporado. Remover as últimas porções do solvente em corrente de gás carbônico ou outro gás inerte. Dissolver o resíduo em 5 ml de éter de petróleo. Transferir para a coluna de adsorção previamente preparada. Receber o filtrado em um frasco Erlenmeyer com rôlha esmerilhada. (O filtrado deverá gotejar na velocidade de cerca de 1 ml por minuto. Se necessário aplicar ligeira sucção.) Quando a solução estiver quase tôda dentro da coluna adicionar 5 ml de éter de petróleo que foi usado para lavar o béquer. Continuar a adição do solvente em porções de 5 a 10 ml previamente usadas na lavagem do béquer, conservando sempre a superfície da coluna coberta com líquido, até que um volume total de 50 ml tenha passado através do tubo de adsorção. Evaporar a maior parte do solvente em banho-maria. Remover as últimas porções do solvente em corrente de gás carbônico ou outro gás inerte. Dissolver o resíduo não adsorvido com 5 ml de clorofórmio. Adicionar uma quantidade de bromo sulfato de piridina suficiente para fornecer um excesso pelo menos de 50% (± 10 ml). Deixar em repouso no escuro por 5 minutos. Adicionar, rapidamente, 5 ml de solução de iodeto de potássio a 10% e 40 ml de água. Agitar bem. Titular com solução de tiosulfato de sódio 0,05 N. Quase no final da titulação adicionar solução de amido a 1%, como indicador. Agitar vigorosamente. Continuar a titulação até o desaparecimento da côr azul. Fazer da mesma maneira, uma prova em branco do reagente bromo sulfato de piridina. 1 ml da solução de tiosulfato de sódio 0,05 N é equivalente a 1,71 mg de esqualeno. (Os reagentes empregados não deverão mostrar, praticamente, absorção de halogênio.)

Cálculo:

$$\frac{(V-v)f.1,71.100}{P} = \text{n.º de mg de esqualeno por 100 g de óleo}$$

V = n.º de ml da solução de tiosulfato de sódio 0,05 N gasto na prova em branco

v = n.º de ml da solução de tiosulfato de sódio 0,05 N gasto na titulação da amostra

f = fator da solução de tiosulfato de sódio 0,05 N

P = n.º de g da amostra

RESULTADOS E DISCUSSÃO

I) *Esqualeno em óleos de oliva*

Nos óleos de oliva por nós utilizados foram feitas previamente as seguintes determinações: índice de refração, grau de refração Zeiss-Wollny, acidez, índice de saponificação, índice de iodo, ponto de fusão e de solidificação dos ácidos gordurosos, índice de Bellier, reação de Halphen-Gastaldi, ensaio preliminar de Holde, reação de Villavecchia-Fabris e reação de Kreiss.

Foram selecionadas para a dosagem do esqualeno, 45 amostras cujos resultados das determinações acima referidas se enquadraram dentro dos padrões estabelecidos para óleo de oliva pelo Regulamento do Policiamento da Alimentação Pública.

Os resultados obtidos estão reunidos na tabela 1.

TABELA 1

ESQUALENO EM ÓLEOS DE OLIVA

Amostra n.º	Procedência	mg de esqualeno por 100 g de óleo
1	444
2	Líbano	575
3	460
4	Palestina	559
5	Portugal	504
6	Itália	554
7	Portugal	468
8	Itália	492
9	Espanha	587
10	Itália	340
11	Itália	400
12	540
13	Portugal	400

Amostra n.º	Procedência	mg de esqualeno por 100 g de óleo
14	Síria	536
15	Síria	614
16	Portugal	567
17	Portugal	559
18	Portugal	443
19	Espanha	430
20	Portugal	518
21	Itália	367
22	Itália	309
23	Portugal	615
24	Síria	544
25		440
26		621
27		412
28	Espanha	378
29	Síria	591
30		635
31	Líbano	561
32	Portugal	473
33	Itália	504
34	Itália	338
35	Líbano	468
36	Síria	569
37	Itália	310
38	Síria	614
39	Líbano	557
40	Síria	623
41	França	534
42		401
43	Itália	457
44	Síria	582
45		540
Média		498
Desvio padrão		± 89

Vemos, por êstes dados, que as quantidades máxima e mínima de esqualeno em óleo de oliva são respectivamente 635 e 309, sendo a média 498 e o desvio pedrão ± 89 .

É interessante assinalar que está aqui reunida a quase totalidade dos óleos de oliva importados pelo Estado de São Paulo, durante o período de 1948-1949, visto serem amostras dêstes óleos obrigatoriamente apreendidas pelo Serviço de Policiamento da Alimentação Pública para serem analisadas pelo Instituto "Adolfo Lutz".

Queremos assinalar que os resultados obtidos nos óleos por nós analisados são em geral mais altos que os citados por FITELSON, (1943, 1945), embora êste autor tenha encontrado um máximo de 708 enquanto que o valor mais alto por nós obtido foi o de 635 mg/100 g.

II) *Esqualeno em diversos óleos vegetais.*

Obedecendo ao mesmo critério adotado para os óleos de oliva, selecionamos 34 amostras de outros óleos, sendo 17 de amendoim e 17 outros de gergelim, algodão, patauí, soja, semente de uva, milho, babaçu e castanha de caju.

Êstes óleos apresentaram um teor de esqualeno cêrca de dez vêzes menor do que o existente nos óleos de oliva (tabela 2).

O esqualeno nos óleos de amendoim variou entre 21 e 58, tendo como média 33. Os óleos de milho, soja e babaçu apresentaram também teores de esqualeno compreendidos entre êsses limites. Porém, os óleos de algodão, patauí, semente de uva e gergelim revelaram ainda menor quantidade de esqualeno.

Quanto ao óleo de castanha de caju tivemos oportunidade de examinar apenas duas amostras cujo teor em esqualeno variou bastante de uma para outra, 46 e 14 mg/100 g.

Os resultados destas análises se acham reunidos na tabela 2 e esquematizados no gráfico.

TABELA 2
ESQUALENO EM DIVERSOS ÓLEOS VEGETAIS

Óleos	Amostra n.º	mg de esqualeno por 100 g de óleo	Média
Amendoim	1	35	33
	2	48	
	3	31	
	4	58	
	5	33	
	6	36	
	7	47	
	8	46	
	9	21	
	10	22	
	11	25	
	12	28	
	13	28	
	14	25	
	15	29	
	16	33	
	17	28	

Óleos	Amostra n.º	mg de esqualeno por 100 g de óleo	Média
Gergelim	1	6	6,75
	2	1	
	3	12	
	4	8	
Algodão	1	17	16
	2	13	
	3	18	
	4	16	
Patauá	1	6	9
	2	13	
Milho	1	51	44
	2	38	
Castanha de caju	1	46	30
	2	14	
Soja	1	27	—
Semente de uva	1	17	—
Babaçu	1	38	—

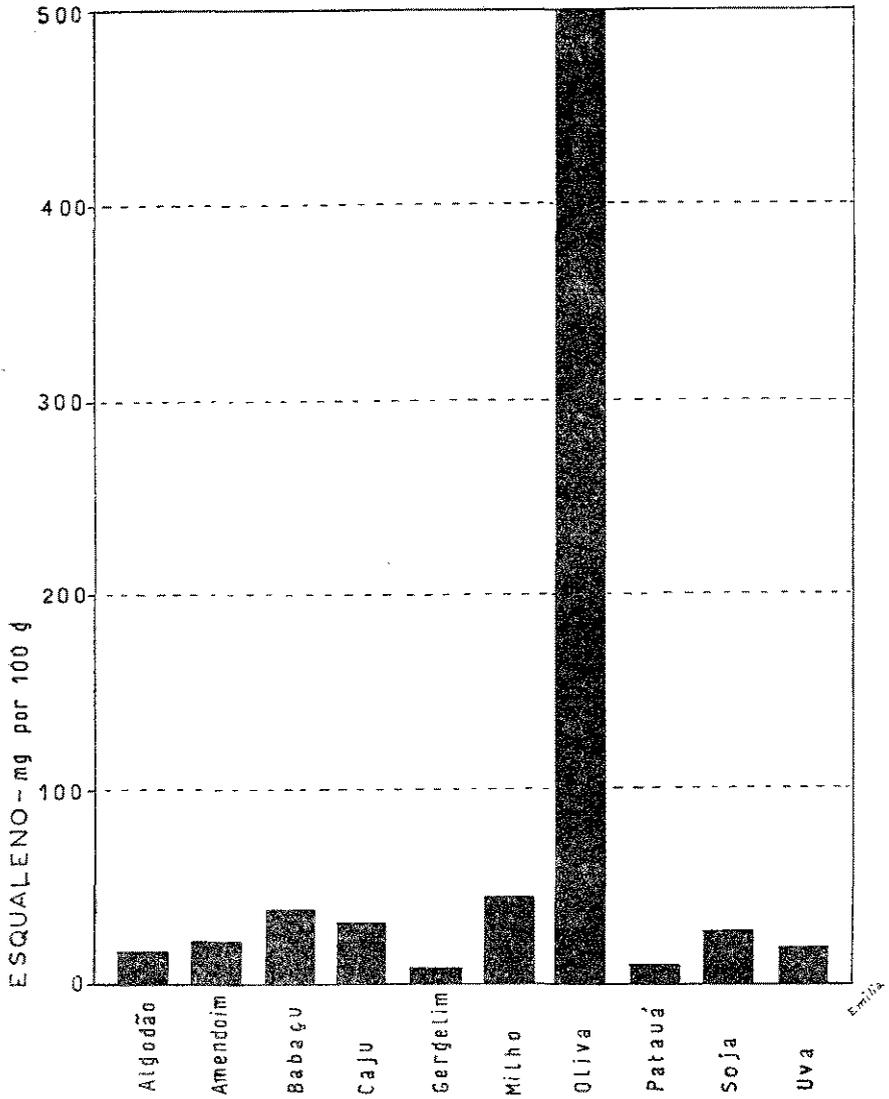
III) *Esqualeno em mistura de óleos*

Dentre os óleos estudados, selecionamos cinco amostras de oliva, cinco de amendoim, uma de soja e uma de castanha de caju com as quais fizemos diferentes misturas a fim de verificar a recuperação do esqualeno.

Feita uma determinada mistura de óleos, calculamos qual deveria ser o seu teor de esqualeno, baseados na determinação prévia nos óleos componentes. Em seguida dosamos o esqualeno.

Na mistura de 70% de óleo de amendoim com 30% de oliva calculamos um esqualeno teórico de 155 e na prática encontramos 157. Em outra mistura, nas mesmas proporções porém com amostras diferentes, em que o cálculo indicava um teor de esqualeno de 211, obtivemos por análise, 210. Em uma terceira experiência, com outros óleos de amendoim e de oliva, onde as proporções eram respectivamente de 80 e 20%, verificamos um esqualeno teórico de 96,8 e na prática encontramos 95. Outra mistura feita com três óleos (oliva 30%, amendoim 35% e soja

ESQUALENO EM ÓLEOS VEGETAIS



35%) revelou um teor de esqualeno teórico de 114 e na prática foi dosado como 115. Em uma última mistura com diferentes óleos nas seguintes proporções: oliva 20%, amendoim 40% e castanha de caju 40% foi encontrado 137 mg de esqualeno por 100 g, sendo que o cálculo teórico foi de 135.

Os resultados obtidos com estas misturas estão reunidos na tabela 3.

TABELA 3

ESQUALENO EM MISTURA DE ÓLEOS

Mistura n.º	Óleos	Teor de esqualeno nos compo- nentes	Percenta- gem de óleos na mistura	Teor de esqualeno na mistura		Recuperação do esqualeno																																										
				encontrado	calculado																																											
1	oliva	442	30	157	155	101,3%																																										
	amendoim	37	70				2	oliva.	621	30	210	211	99,5%	amendoim	36	70	3	oliva.	400	20	95	96,8	98,1%	amendoim	21	80	4	oliva.	309	30	115	114	100,8%	amendoim	35	35	soja	27	35	5	oliva.	582	20	137	135	101,4%	amendoim	33
2	oliva.	621	30	210	211	99,5%																																										
	amendoim	36	70				3	oliva.	400	20	95	96,8	98,1%	amendoim	21	80	4	oliva.	309	30	115	114	100,8%	amendoim	35	35		soja	27	35				5	oliva.	582	20	137	135		101,4%	amendoim	33				40	castanha de caju
3	oliva.	400	20	95	96,8	98,1%																																										
	amendoim	21	80				4	oliva.	309	30	115	114	100,8%	amendoim	35	35		soja	27	35				5	oliva.	582	20	137	135	101,4%	amendoim	33	40		castanha de caju	14	40											
4	oliva.	309	30	115	114	100,8%																																										
	amendoim	35	35																																													
	soja	27	35																																													
5	oliva.	582	20	137	135	101,4%																																										
	amendoim	33	40																																													
	castanha de caju	14	40																																													

Em tôdas as experiências feitas, os resultados das dosagens nas misturas confirmaram os cálculos teóricos. Graças a essa concordância é possível calcular a percentagem de óleo de oliva de uma mistura pela determinação prévia do esqualeno nos componentes.

No caso de não ser conhecido o teor de esqualeno dos óleos componentes de uma determinada mistura, a dosagem de esqualeno poderá dar uma idéia da proporção aproximada do óleo de oliva, atribuindo-se a êste óleo um valor mínimo de esqualeno e um valor médio aos demais óleos.

Um cálculo teórico dêste tipo é de grande utilidade para a constatação de fraude em misturas de óleos, no caso de o óleo de oliva não estar na proporção indicada pelo fabricante.

IV) Óleos nacionais que se assemelham ao de oliva

Dentre os óleos enviados para o Instituto "Adolfo Lutz", tivemos oportunidade de analisar duas amostras de óleo de cas-

tanha de caju e duas de óleo de patauá*. Os índices característicos destes óleos se aproximam bastante aos de oliva, com exceção do teor de esqualeno (tabela 4).

No caso do óleo de patauá, em que também os caracteres organoléticos são semelhantes ou mesmo idênticos aos de oliva, o esqualeno é o único dado diferencial. Quanto ao óleo de castanha de caju, além do esqualeno baixo, também o índice de Bellier se distancia, sendo mais elevado que o de oliva.

Para evidenciarmos a importância da determinação do esqualeno, preparamos duas misturas; uma, de óleo de oliva e óleo de castanha de caju, em partes iguais e outra, de óleo de oliva e de patauá (1 + 3).

Os caracteres organoléticos de tais misturas se mostraram próprios dos de óleo de oliva e o resultado analítico foi o seguinte:

TABELA 4

	Óleos puros				Misturas	
	Oliva		castanha de caju	patauá	oliva (I) + castanha de caju (1+1)	oliva (II) + patauá (1+3)
	amostra I	amostra II				
Acidez em ml de solução N	1,5	2,0	2,5	7,5	2,48	6,0
Índice de saponificação	198,1	189,7	189	198,9	193	190,0
Índice de iodo (Hubl)	82,2	80,2	82,2	75,5	82	79,7
Índice de refração a 40°C.	1,4620	1,4618	1,4619	1,4613	1,4619	1,4615
Gran de refr. Zeiss-Wolny	54,7°	53,7°	53,9°	53,0°	53,9°	53,3°
Índice de Bellier	14,6°	14,6°	21,8°	13,2°	1 , °	14,3°
P. S. dos ácidos gordurosos	23,15°	20,3°	26,6°	21,3°	24,2°	20,6°
P. F. dos ácidos gordurosos	29,1°	25,1°	31,4°	27,65	31,2°	27,1°
Esqualeno	310	534	46	6	175	139

Vemos por estes dados que todos os resultados, com exceção da quantidade de esqualeno, indicam que tais misturas podem ser consideradas como óleo de oliva puro. A única indicação de fraude é dada pela quantidade baixa de esqualeno. Um tal teor em esqualeno não é possível em um óleo de oliva puro.

Tal afirmativa se baseia em cálculo estatístico efetuado nos resultados das dosagens de esqualeno nos óleos que tivemos oportunidade de analisar.

(*) Óleo extraído dos frutos da palmeira patauá (*Oenocarpus batana*, Mart.) originária das florestas amazônicas.

Em uma distribuição normal como é o caso presente, três vezes o desvio padrão a partir da média ($M \pm 3\sigma$) abrange praticamente a totalidade dos casos.

Assim, aplicando êste cálculo às nossas determinações, a média mais e menos três vezes o desvio padrão dará o valor máximo de 765 e o valor mínimo de 231 mg/100 g. Êstes valores limites, calculados estatisticamente abrangem 99,73% da totalidade dos casos, sendo que em 10.000 observações apenas 27 ficariam fora dêstes extremos.

V) *Precisão do método*

A precisão do método e a reprodutibilidade das determinações do esqualeno foi sempre constatada por nós, ao executarmos análises em andamentos paralelos ou quando a dosagem era repetida por outro analista; em ambos os casos a variação de uma análise para outra nunca foi maior do que 2 a 3 mg/100 g.

A recuperação do esqualeno em misturas de óleos também foi objeto de estudo detalhado. O cálculo desta recuperação foi feito quando trabalhamos com misturas de óleos, estando os resultados incluídos na tabela 3. A variação máxima entre a análise da mistura e o cálculo teórico, baseado na análise dos óleos componentes, não chegou a 2%.

Fizemos êste mesmo cálculo com uma série de resultados apresentados por FITELSON (1945). Êste autor já se havia preocupado com o problema da precisão do método da dosagem do esqualeno. Para elucidar tal questão, FITELSON (1945) distribuiu três amostras de óleos (oliva, milho e soja) a oito pesquisadores em diferentes partes dos Estados-Unidos, para que dosassem o esqualeno em cada amostra e em uma mistura delas contendo 20% de óleo de oliva, 40% de óleo de soja e 40% de óleo de milho. Com os resultados das dosagens dos óleos componentes, feitos por cada pesquisador, calculamos qual deveria ser o teor de esqualeno da mistura indicada por Fitelson e com êstes novos dados verificamos a recuperação do esqualeno em cada caso (tabela 5). A variação máxima não chegou a 4% e o desvio médio absoluto foi de 1,7%, o que indica ser o método bastante preciso para a dosagem de misturas de óleos.

TABELA 5

DETERMINAÇÃO DE ESQUALENO POR DIFERENTES ANALISTAS
(Fitelson, 1945)

Colaboradores	Óleo de milho	Óleo de oliva	Óleo de soja	Mistura		Recuperação do esqualeno
				Óleo de oliva - 20%	Óleo de milho - 40%	
				encontrado	calculado	
A	36	414	17	105	104,0	101,0 %
B	37	382	13	96	97,2	98,8 %
C	37	383	17	102	98,2	103,9 %
D	32	400	9	95	96,4	101,5 %
E	40	413	17	106	105,4	100,6 %
F	34	406	11	96	99,2	96,8 %
G	33	390	11	97	97,4	99,6 %
H	34	406	14	99	100,6	98,4 %
Média	35	40	17	100	98,8	100,1 %
Desvio médio absoluto	2,1	9,4	2,5	3,4	2,7	1,7
Desvio máximo	+ 5	- 18	- 5	+ 6	+ 5,6	+ 3,3

RESUMO E CONCLUSÕES

1) O método de dosagem de esqualeno no filtrado cromatográfico do extrato etéreo da parte insaponificável de um óleo foi utilizado para a identificação de óleos de oliva e para sua dosagem em misturas.

2) O teor de esqualeno nos óleos de oliva examinados variou de 309 a 635 (média 498, $\sigma = \pm 89$) e se mostrou cerca de 10 vezes maior do que nos demais óleos vegetais comestíveis por nós analisados (amendoim, algodão, gergelim, milho, patauá, soja, semente de uva, babaçu, castanha de caju).

3) O cálculo teórico da quantidade de esqualeno de uma determinada mistura foi sempre confirmado pela prática, com menos de 2% de diferença.

4) A determinação do esqualeno é por isso indicada para a identificação do óleo de oliva e para sua dosagem em misturas, o que se pode fazer com precisão desde que se conheça a quantidade de esqualeno dos óleos componentes da mistura.

5) Os óleos de patauá e de castanha de caju assemelham-se bastante ao de oliva, sendo o teor em esqualeno um dos únicos dados para sua diferenciação.

SUMMARY

The Fitelson method for squalene determination in oils was performed for olive oil identification and its dosage in oil mixtures.

45 samples of olive oil, received by the Instituto "Adolfo Lutz" (S. Paulo) during 1948-49, showed the squalene content varying from 309 to 635 (arithmetical average 498; standard deviation ± 89).

34 samples of other refined vegetable edible oils (peanut, cotton-seed, sesame, corn, soya bean, grape-seed, "patauá", "ba-baçu" and cashew-nut oils) showed very low squalene contents, about ten times less than olive oil.

The characteristics of "patauá" and cashew-nut oils are similar to those of olive oils except for the squalene content. The squalene determination is crucial in differing them from the latter.

The results obtained by this method showed a good reproducibility.

Oil mixtures were made and squalene content determined in the components and in the final mixtures. The squalene recuperation for the mixtures agreed with the theoretical calculation, the difference being smaller than 2%.

Thus, the squalene value is an important factor in the identification of olive oil and for the quantitative olive oil determination in oil mixtures, as long as the value of the squalene of the components is known.

BIBLIOGRAFIA

- FITELSON, J. — 1943 — Detection of olive oil in edible oil mixtures. *J. Ass. Official Agr. Chem.* 26:499-506.
- FITELSON, J. — 1945 — Detection of olive oil in edible oil mixtures. *J. Ass. Official Agr. Chem.* 28: 283-284.
- THORBJARNERSON, T. e J. C. Drummond — 1935 — Occurrence of an unsaturated hydrocarbon in olive oil. *The Analyst* 60: 23-29.
- TSUJIMOTO, M. — 1906 — *J. Chem. Ind.* (Tokio) 9: 953 in Cattaneo, P., G. Karman e R. Rosovsky — 1945 — Estudios sobre insaponificables. *Ann. Ass. Quim. Argentina* 33: 85-109.

BREVE COMENTÁRIO SÔBRE O INTERESSANTE CASO DE LEISHMANIOSE CUTÂNEO-MUCOSA OBSERVADO EM IRUPANA — (Bolívia).*

LUÍS DE SALLES GOMES

Do Instituto "Adolfo Lutz"

A um gesto de nímia gentileza do ilustre colega Prof. L. Prado Barrientos, eminente titular da cátedra de Moléstias Tropicais da Universidade de "San Andrés", em La Paz (Bolívia) devo, não só o conhecimento da sua mui interessante "Nota Prévia" sôbre "Um caso de Leishmaniosis cutaneo-mucosa com predomínio de leishmanides cutaneas"; apresentado como contribuição ao IV Congresso Internacional de Moléstias Tropicais, reunido em Washington, em maio de 1948, como também a aquisição de culturas puras de Leishmania, obtidas de fragmentos de tecido infectado, e de esfregaços referentes ao mesmo caso.

Embora tendo tido já, sob minhas vistas, desde que tive a atenção voltada para o estudo da nossa leishmaniose, algumas centenas de casos das mais variadas procedências, como sejam as zonas das Estradas de Ferro Noroeste, Sorocabana e Paulista-nova neste Estado, e alguns também do interior dos Estados da Bahia e de Pernambuco, no norte do país, jamais me foi dado observar um caso como o da observação do Prof. L. Prado Barrientos, com características tão diversas das habitualmente encontradas na nossa leishmaniose cutâneo-mucosa e, também, na "espundia" observada comumente na Bolívia.

Êsses aspectos diferentes fundam-se, principalmente, na abundância de lesões nodulares verrucosas disseminadas pela face, algumas das quais sangrentas, na intensa hipertrofia dos pavilhões

Recebido para publicação em 24 de abril de 1950.

(*) Este trabalho foi enviado em setembro de 1949 para publicação no número especial da Revista dos acadêmicos de Medicina da Universidade Mayor de La Paz, número êsse que seria dedicado ao ilustre Prof. L. Prado Barrientos, daquela Universidade.

Cêrca de um mês depois, entretanto, chegou ao meu conhecimento a infausta notícia do seu inesperado falecimento. Aproveitando êste ensejo, consigno nesta nota, a homenagem da minha saudade e do meu maior respeito à memoria do saudoso Professor.

auriculares conseqüente a lesões do mesmo tipo verrucoso, na presença de enorme quantidade de leishmanias em simples esfregaços de materiais colhidos dessas lesões e em cortes de tecido, fatos êstes que tive ocasião de observar tanto nas ótimas fotos que ilustram a observação, como nos materiais gentilmente enviados pelo ilustre colega que estudou o caso.

A propósito do fato de apresentar o doente lesões na mucosa nasal, sem que a invasão dessa mucosa se desse através o limite cutâneo-mucoso das respectivas fossas, devo esclarecer que êste fato não me pareceu tão estranho como as outras peculiaridades acima relatadas, pois que, entre nós observam-se comumente indivíduos que apresentam apenas lesões cicatriciais leishmanióticas, localizadas ora nas mãos, nos braços ou nas pernas, com a pele da face absolutamente livre, indivíduos êstes que, entretanto, muito mais tarde, isto é, três, cinco ou sete anos depois, vêm a padecer de lesões nodulares, ulcerosas e infiltrativas instaladas no interior das fossas nasais, portanto em plena zona mucosa, sem que a propagação da moléstia se operasse, por continuidade, da zona cutânea para a mucosa.

Êsses casos com afecções mucosas tardias orientam-se naturalmente, em sua maioria, às consultas rinológicas, não sendo simples seu diagnóstico, pelo menos na fase inicial da afecção.

Eles se incluem, precisamente, entre aquêles de difícil diagnóstico e para os quais tive ocasião de chamar a atenção quando publiquei os resultados das minhas observações sobre o valor da intradermo-reação de Montenegro como elemento diagnóstico nas várias localizações e nos vários estádios de desenvolvimento da leishmaniose cutâneo-mucosa americana (*Brasil Médico*, 1939-53 pág. 1079).

Sem dúvida essas lesões mucosas do nariz, em grande parte, são dependentes da propagação lenta do protozoário através do sistema linfático ou mesmo sanguíneo, e destarte, não seria de admirar que essa ocorrência se tivesse dado num doente que, ao ser descoberto e observado clinicamente, já padecia do mal desde cêrca de quatro anos antes.

O que se me afigura de grande interêsse, no particular, é o fato de cicatrizarem-se, espontâneamente, sem influência medicamentosa, lesões ulcerosas como a surgida no palato duro do paciente, e para a qual o ilustre autor da observação chama justa-

mente a atenção. O acontecimento é tanto mais digno de nota, quanto se sabe da grande resistência oferecida ao tratamento, pelas lesões leishmanióticas mucosas produzidas pela *Leishmania brasiliensis*.

PROVAS COMPARATIVAS INTRADÉRMICAS

Atendendo a um honroso convite que me fez o Sr. Arturo Lara C., inteligente e estudioso acadêmico de medicina da Universidade Mayor de La Paz atualmente em vias de terminar um estágio de 6 meses nas várias secções do Instituto "Adolfo Lutz" — e de cujas mãos recebi, gentilmente enviado pelo Prof. Prado Barrientos, em janeiro último, cópia datilografada da sua interessante monografia e numerosas preparações e esfregaços, foi que escrevi estas notas, sôbre o caso atípico de leishmaniose descoberto e estudado por aquêlo ilustre Professor, procurando juntar-lhes, a título de cooperação muito cordial, algumas provas imunológicas que rapidamente pude realizar.

Estas provas consistiram na inoculação intradérmica, comparativa, de suspensões antigênicas preparadas com culturas (leptomonas) mortas de *Leishmania* do caso boliviano e de *Leishmania brasiliensis*, em pacientes leishmanióticos provenientes do interior dos Estados de S. Paulo e Paraná.

Em vinte (20) doentes de leishmaniose — entre os quais havia portadores de lesões sômente cutâneas, outros com lesões cutâneo-mucosas, e outros, finalmente, que devido a tratamento, apresentavam há 2, 3 e 4 anos lesões cutâneas cicatriciais, mas que, entretanto, agora se queixavam de "novidade", (como diziam), dentro das fossas nasais — em todos êles, ambas as provas intradérmicas feitas comparativamente e lidas 72 horas depois deram resultados fortemente positivos, conforme se poderá apreciar nas ilustrações fotográficas que se seguem e referentes a apenas alguns dos casos observados.

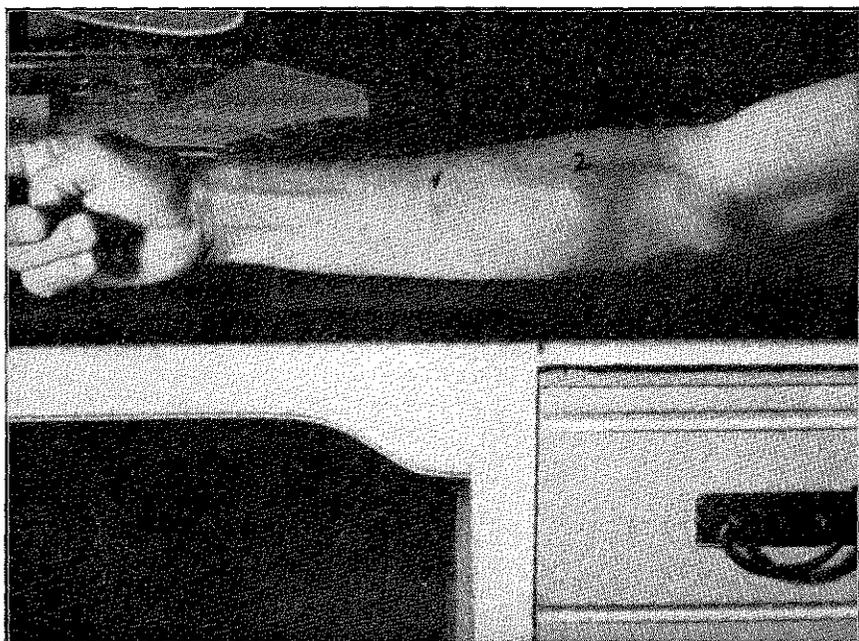
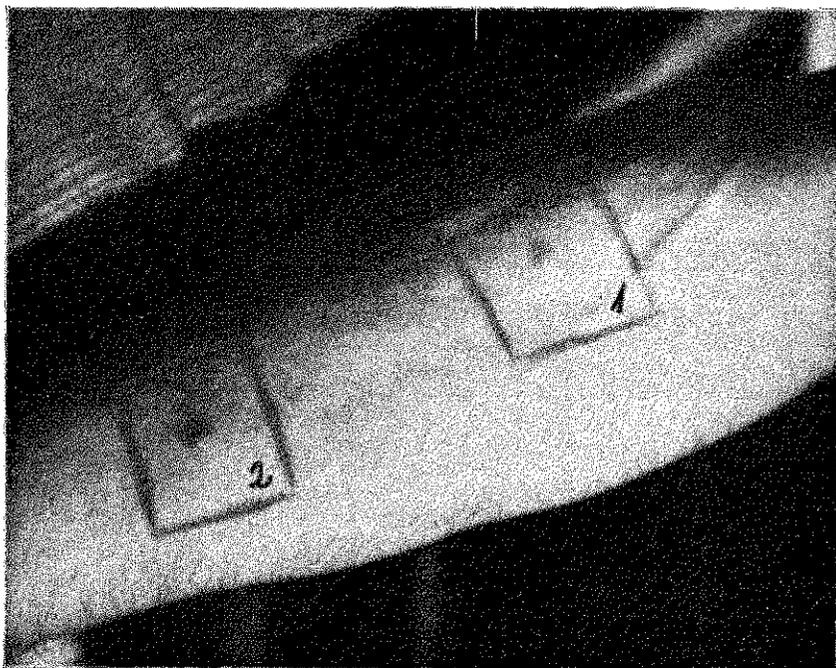
Nos resultados dessas provas alérgicas comparativas, não era, aliás, de se esperar cousa diversa da obtida, pois que, além da possibilidade de poder o caso boliviano, embora tão atípico, ter como agente causal a própria *Leishmania brasiliensis*, é sabido, como eu próprio tive ocasião de experimentar em 1939, que o nosso leishmaniótico torna-se alérgico também às suspensões culturais mortas, não só da *Leishmania brasiliensis*, como também da *L. tropica*, *L. infantum*, *L. donovani* e *L. chagasi*.

Entretanto, não será demais a investigação da prova alérgica cruzada no doente, e que poderá ser realizada com o antígeno de *Leishmania brasiliensis*, utilizado habitualmente entre nós na intradermo-reação de Montenegro, e do qual acabo, aliás, de enviar uma partida ao digno autor da "Nota Prévia" apresentada ao IV Congresso Internacional de Moléstias Tropicais, reunido em Washington em maio de 1948, traduzida e já publicada êste ano nas *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, do Rio de Janeiro (46 (2), pág. 415-1948).

Segundo apêndice que juntou o Prof. Prado Barrientos ao trabalho que gentilmente me remeteu, entre outras pesquisas, está êle realizando provas imunológicas a partir de antígenos obtidos de culturas e de tecido parasitado, e referentes à fixação do complemento e à exploração alérgica em outros doentes de leishmaniose.

Julho, 1949.

INTRADERMO-REAÇÕES COMPARATIVAS REALIZADAS EM CASOS
DE LEISHMANIOSE CUTÂNEO-MUCOSA AMERICANA (72 horas)



1 — Antígeno preparado com cultura da *Leishmania* isolada do caso de Iru-
pana (Bolívia).

2 — Antígeno preparado com *Leishmania brasiliensis*.

MÉTODO FÁCIL E RÁPIDO PARA COLORAÇÃO DE TREPONEMAS.*

LUÍS DE SALLES GOMES

Do Instituto "Adolfo Lutz"

No curso de algumas pesquisas realizadas com materiais fornecidos por 2 casos de bouba, em princípios de 1949, ocorreu-me a tentativa de coloração do *Treponema pertenuae* pelas modernas tintas utilizadas para escrever, seja de origem norte-americana, seja de origem nacional, e que contêm em sua composição um forte fixador.

Devo dizer que a idéia foi coroada do mais completo êxito, logo com a primeira das tintas norte-americanas experimentadas: a tinta azul-escura (*blue-black*), "Super-chrome", destinada a alimentar as canetas "Parker 51".

A mistura de uma gôta de serosidade colhida de uma boubide ou pianoma, com outra gôta da tinta acima referida, colocada na extremidade de uma lâmina bem limpa, e espalhada com a borda de uma lamínula como se fôra uma gôta de sangue, deu-me preparações belíssimas e que até hoje, decorridos já mais de um ano e meio, conservam absoluta nitidez e perfeita fixação.

O método não necessita do calor nem de substâncias químicas estranhas para fixação do esfregaço. O fixador contido na própria tinta é suficiente para manter o esfregaço fixo à lâmina e a tinta fixa aos treponemas. Êstes apresentam-se com sua morfologia praticamente inalterada (ver microfotografia).

Feita a mistura rápida da serosidade a examinar com a gôta de tinta, num dos extremos da lâmina, executa-se o esfregaço também rapidamente, procurando-se obter sempre uma preparação fina e outra mais espessa. Deixados em repouso, cêrca de 3 minutos (podendo ser também ligeiramente agitados ao ar), os preparados estão prontos para serem examinados ao microscópio, com

Recebido para publicação em agosto de 1950.

(*) Trabalho apresentado ao Quinto Congresso Internacional de Microbiologia, realizado, em agosto de 1950, no Rio de Janeiro.

objetiva de imersão, sem receio de que o material ou a tinta dêles se destaquem.

Sôbre um fundo em que se vêem, finamente espalhados, miríades de minúsculos pontos azul-claros (no caso de se usar a tinta "Super-chrome" *blue-black*) percebe-se, com absoluta nitidez e destaque, o treponema integralmente impregnado de uma coloração azul-escura.

As hemácias, eventualmente existentes na preparação, mantêm sua coloração normal, ligeiramente amarelada, não sendo atingidas pelo corante, a não ser, às vêzes, ao longo da sua borda.

Aplicado às serosidades obtidas dos protosifilomas, o método de coloração deu, para o *Treponema pallidum*, os mesmos excelentes resultados obtidos com a espécie *pertenue*.

Após o exame, o óleo de cedro utilizado para a pesquisa poderá ser retirado com xilol da superfície da lâmina, sem que o esfregação sofra qualquer alteração.

A tinta revelou também afinidade para espirilos de Vincent, porém, algumas tentativas de coloração de leptospiras em cultura, foram completamente frustradas.

Devo assinalar que as tintas da mesma espécie, porém de côres diferentes, tais como a vermelha, a verde, a azul-clara e a preta, várias vêzes experimentadas, foram incapazes de corar os treponemas como corou a azul-escura (*blue-black*) por mim inicialmente usada.

Parece-me que a própria tinta "Super-chrome *blue-black*" não obedece a uma fórmula uniforme de preparação, pois, segundo pude observar, de quatro outras amostras experimentadas, duas não foram capazes de corar os treponemas, e outras duas coraram-nos mal, isto é, sem a perfeição e a nitidez da primeira amostra utilizada. Ignoro se tôdas estas amostras pertenciam à mesma partida.

Não me parece que a idade da tinta possa ter grande influência nos resultados obtidos, pois a pequena quantidade ainda restante da amostra "Super-chrome" azul-escura que possuo há já cêrca de dois anos, continua até hoje, dando excelentes colorações.

Acredito, antes, que a ação desigual das várias amostras, dependa diretamente de variações na dosagem dos vários elementos de cada partida.

A tinta "Quink", cujo pó é importado dos Estados-Unidos e posteriormente diluído no nosso país, bem como a tinta de fabricação nacional "Tin-Goy", não deram coloração alguma.

Enquanto, porém, não puderem ser suficientemente esclarecidas as razões dessa ação desigual de uma mesma espécie de tinta, aconselho àqueles que desejarem executar o método, o uso da tinta "Super-chrome *blue-black*", tendo o cuidado de agitá-la ligeiramente antes do uso, quer esteja no estôjo da caneta, quer dentro do frasco.

Em tais condições, é possível que aquêles que tenham à mão tinta da mesma partida que a experimentada por mim, possam confirmar plenamente as minhas observações.

Apresentando esta modesta contribuição sôbre um novo método de coloração dos treponemas, de execução fácil e rápida, espero ter concorrido para tornar mais ao alcance dos pesquisadores a confirmação diagnóstica pelo laboratório, de casos de boubá, de sífilis e, talvez, de pinta (*T. carateum*), sobretudo quando há necessidade de tais provas laboratoriais, em lugares longínquos, desprovidos de maiores recursos, e onde se tornam impossíveis as práticas dos clássicos métodos de pesquisa de Giemsa, da impregnação argêntica de Fontana-Tribondeau e da microscopia em campo escuro.

AN EASY AND RAPID STAINING METHOD FOR *TREPONEMATA* * SUMMARY

Towards the beginning of 1949, while studying two cases of framboesia, it occurred to the Author the idea of trying the modern american writing inks to stain *Treponema pertenuae*. From the start he employed very successfully the "Super-Chrome" blue-black ink used to feed the "Parker 51" fountain pen.

A droplet of serosity from a framboesia lesion is mixed with a droplet of ink on a clean slide, close to one of the extremities. The mixture is spread with the edge of a cover slide as is done for blood smears. The manipulations ought to be done as quickly as possible and two slides ought to be prepared, one with a thicker smear and the other with a lighter one. In about three minutes the smears will be dried and ready for oil immersion examination. The treponemata will stand out clearly and heavily blue-black stained on a light blue blackground. The staining is permanent.

Material from syphilitic lesions stained by the method described, also showed excellent staining of *Treponema pallidum*.

Vincent's spirillae also took the stain, but *Leptospira icterohaemorrhagiae* in cultures did not take it at all.

Red, green, light-blue and black inks of the same kind do not stain treponemata well.

With the ink "Quink" whose powder is imported from the United States and prepared here in Brazil, the A. did not succeed in obtaining staining at all.

The A. thinks that even the "Super-chrome blue-black" ink is not always prepared according to the same formula, because as he could show, from four other samples tested, two of them did not stain the treponemata at all and the other two samples stained them poorly. He did not know if all those samples belonged to the same batch.

The A. did not think that age might influence the staining power of the ink because the remaining of his original sample, already two years old, still stains well.

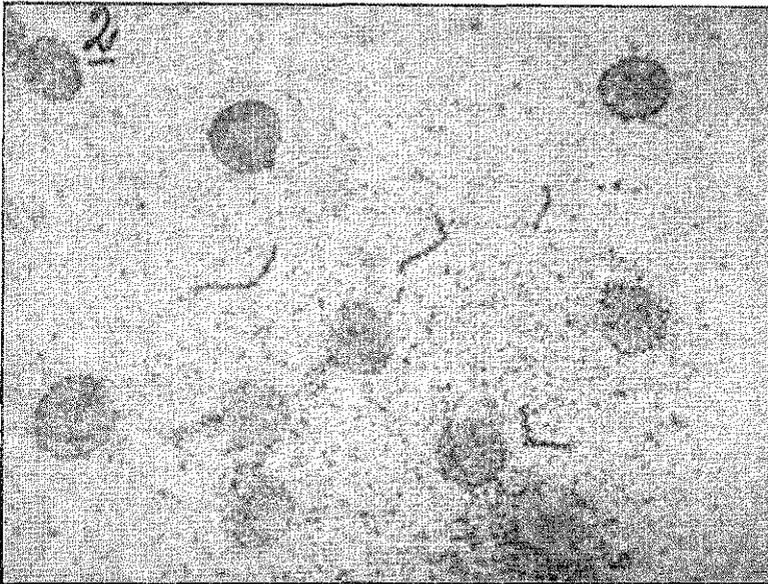
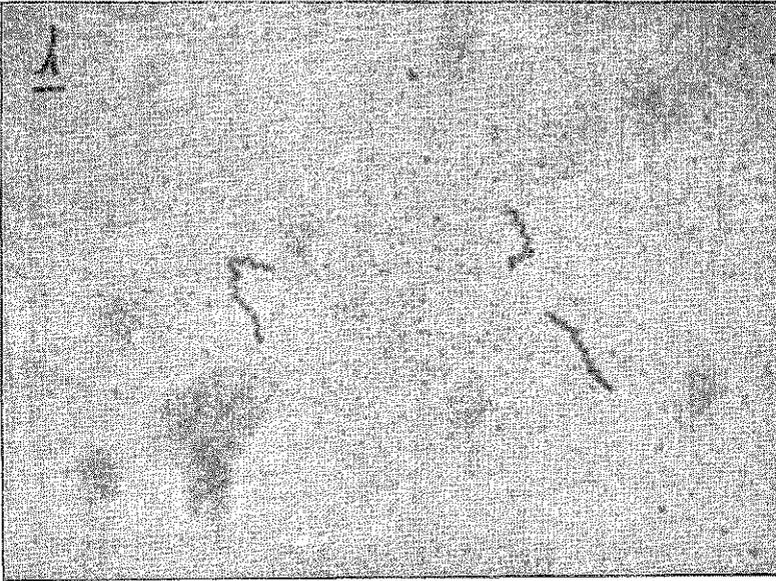
He rather believes that the difference in staining behaviour of the various samples is due to variation in the dosage or quality of the components of each batch.

While the reasons for such staining power variations can not be determined, the A. advises the use of the "Super-chrome blue-black" ink in the hope that those who may like to try it, hit a sample equal to that first employed successfully by him.

He is endeavouring to ascertain with the "Super-chrome blue-black" ink makers the right formula for a surely standardized uniformly staining product.

This staining method, after the standardization of the ink, the A. hopes, will render easier the diagnosis of framboesia, syphilis and perhaps pinta (*T. carateum*) where the use of the classical methods such as dark field, Giemsa staining and Fontana-Tribondeau's silver impregnation are not feasible.

(*) Presented to the 5th Intern. Congress of Microbiology assembled in Rio de Janeiro in August 1950, by L. de Salles Gomes.



T. pertenuis (1) e *T. pallidum* (2) corados pela tinta Parker
"Super-chrome" azul-escura (*blue-black*). x 1.575.