

REVISTA
DO
INSTITUTO ADOLFO LUTZ

LABORATÓRIO DE SAÚDE PÚBLICA

VOL. 12 • 1952 • NÚMERO ÚNICO



SÃO PAULO — BRASIL

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 de aparecimento.

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

Tôda a correspondência referente à Revista deve ser dirigida ao Diretor do Instituto Adolfo Lutz-Laboratório de Saúde Pública.

DR. ARIOSTO BÜLLER SOUTO

Avenida Dr. Arnaldo, 3

Caixa Postal 7027

São Paulo — Brasil

REVISTA
DO
INSTITUTO ADOLFO LUTZ

LABORATÓRIO DE SAÚDE PÚBLICA

VOL. 12 • 1952 • NÚMERO ÚNICO



SÃO PAULO — BRASIL

S U M Á R I O

ARIOSTO BÜLLER SOUTO — Bruno Rangel Pestana — Servidor emérito...	11
JAIR CORRÊA CARVALHO e MARCELO OSWALDO ÁLVARES CORRÊA — Considerações em tôrno da ocorrência de ovos de nematódios da família <i>Heteroderidae</i> em fezes humanas	13
AUGUSTO de E. TAUNAY e MAURO CÂNDIDO de SOUZA DIAS — Contribuição ao estudo da flora bacteriana das sinusites; verificação de sua sensibilidade aos antibióticos	27
JOSÉ da SILVA COSTA — Incidência de <i>Giardia sp.</i> em fezes de animais domésticos (Nota prévia).....	47
J. A. de MESQUITA SAMPAIO e EÇA PIRES DE MESQUITA — Terreno endocrinopático e infecção (Considerações clínico-experimentais).....	49
JORDANO MANIERO — Sôbre o uso de <i>Rhizopus nigricans</i> em testes biológicos (Nota prévia)	91
BRENO BABUDIERI — Studio di due ceppi di leptospire acquicole isolate in Argentina ed in Brasile	93
S. A. LEÃO de MOURA — Contribuição do Laboratório Regional de Santos na epidemiologia da esquistossomose <i>mansonii</i> em Santos.....	97
J. B. FERRAZ de MENEZES JÚNIOR — Fraudes do café.....	111
J. M. TAQUES BITTENCOURT, MARCELLO OSWALDO ÁLVARES CORRÊA, TOSHYASU FUJIOKA, JOÃO TRANCHESI e BERNARDO BERDRIKOW — O líquido cefalorraquidiano na moléstia de Weil.....	145
SEBASTIÃO DE CAMARGO CALAZANS — Discurso pronunciado durante a cerimônia inaugural da nova sede da unidade de Taubaté.....	163
JOSÉ LOPES NETTO, ROBERTO DE ALMEIDA MOURA E LÚCIO P. DE CARVALHO LIMA — Ação <i>in vitro</i> da aureomicina oral e do fosfato bicálcico sôbre o crescimento de <i>Candida albicans</i>	173
JARBAS AUGUSTO VIEGAS — Novo processo e aparelho — Microfluidoscópio — para a leitura da reação de Kahn e para análises, exames ou leituras de floculações, aglutinações, partículas, turvações e opalescências em soros, reações, soluções, suspensões, emulsões ou substâncias líquidas em geral.	179



DR. BRUNO RANGEL PESTANA

BRUNO RANGEL PESTANA

SERVIDOR EMÉRITO

A Revista do Instituto Adolfo Lutz, órgão do Laboratório de Saúde Pública do Estado, se orgulha em poder homenagear um dos valores morais e científicos desta instituição, na pessoa de Bruno Rangel Pestana.

Na época atual, quando tantos acontecimentos desencorajadores se entrecrocaram, necessário se torna exaltar os valores do espírito.

A ética biológica, nos termos da eterna recorrência, exalta o tipo médio da massa.

A cultura, relegada a plano inferior, cede lugar à tecnologia, predominante neste século utilitarista.

Traços dominantes na personalidade de Bruno Rangel Pestana são a desambição, a ausência de vaidade e o poder da vontade no sentido de trabalhar com entusiasmo, de realizar e de engrandecer o nível cultural da Pátria.

A convicção na trilha escolhida revelou um sacerdote na religião do desprendimento e do altruísmo.

Uma definida e especial vocação para a investigação científica permitiu-lhe uma exata separação entre o conceito da cultura e da técnica aplicada, nascida da ciência-conhecimento.

Discriminando e aproveitando inteligências, orientou-as no sentido da maior eficiência, conseguindo grupar uma plêiade de técnicos em Bromatologia e Química.

Com talento de organização, deu-lhes liberdade de ação e de autonomia, facilitando os trabalhos da pesquisa experimental e imprimindo maior eficiência à rotina analítica.

Conhecedor da maioria dos assuntos da Parasitologia e da Bacteriologia, possuidor de técnicas adequadas e de conhecimentos aprimorados, jincou também um marco na evolução da Bromatologia e da Química farmacêutica, quando nomeado para a Diretoria de Bromatologia e Química do Instituto Adolfo Lutz.

Orientando a publicação dos "Métodos de Análises Bromatológicas", estabeleceu bases seguras para as investigações da Química bromatológica no Brasil.

Possuidor desse extrato definitivo, desse sólido mas indefinido resíduo de tudo quanto é conhecimento acessório, Bruno Rangel Pestana atingiu lugar destacado entre os trabalhadores da Ciência.

É Bruno Rangel Pestana natural da Capital do Estado de São Paulo, onde nasceu a 15 de setembro de 1881.

Formou-se em Farmácia pela Faculdade de Farmácia anexa à Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, em 1902.

Foi convidado, em 1907, para integrar o quadro do Instituto Serumterápico. Em maio de 1911, como representante do Estado de São Paulo junto à Exposição Internacional de Dresden, foi à Alemanha, onde permaneceu durante um ano, reassumindo seu posto a 27 de maio de 1912.

De regresso, trouxe conhecimentos novos, adquiridos em estudos com Abderhalden.

Ao lado de Vital Brasil Mineiro da Campanha, então diretor do Instituto, realizou estudos sobre o ofidismo e sobre soros contra veneno das cobras peçonhentas e ainda a respeito do nambiwú, da lepra e da difteria.

Em 1915, transferiu-se para o Instituto Bacteriológico.

No Instituto organizado por Le Dantec, Bruno Rangel Pestana trabalhou ao lado de Teodoro Baima e Adolfo Lindenberg. Com o primeiro, estudou o parasitismo intestinal dos imigrantes do Império Japonês e, com o segundo, estudou a quimioterapia das bactérias ácido-resistentes.

Em 14 de novembro de 1917, Artur Neiva, diretor geral do Serviço Sanitário, enviou ao diretor do Instituto Bacteriológico, na ocasião Teodoro Baima, o ofício n.º 2.335, transmitindo os elogios do Presidente do Estado feitos a Bruno Rangel Pestana pelo "brilhante desempenho" em sua missão em Curitiba, Estado do Paraná, como integrante da "Comissão da febre tifóide", de outubro de 1917.

Durante o surto da gripe, colaborou e trabalhou com afinco.

Em 1925, por Decreto de 23 de julho, voltou a trabalhar no Instituto Butantan, visto ter sido o Instituto Bacteriológico integrado ao primeiro, onde permaneceu até 1931. Com Jaime Pereira, estudou, então, as propriedades da adrenalina oxidada. Constatou o valor do ácido rosólico no isolamento dos germes colitífico-disentéricos, juntamente com Sebastião Camargo Calazans.

Tomou parte ativa na Revolução Constitucionalista, deflagrada em São Paulo no dia 9 de julho de 1932.

Pelo seu esforço, coadjuvado pelos dos demais funcionários, depois de debelado o surto de peste, havido em São Paulo em julho de 1936, fez jus ao ofício P/1051, de 28 de agosto daquele ano, do diretor geral do Serviço Sanitário.

Em 1938, integrou a "Comissão de Estudos da leishmaniose", juntamente com Humberto Pascale e Samuel Pessoa. Terminados os estudos, publicou, com o último, importante monografia, de grande valor para a bibliografia médica, que versa sobre a leishmaniose.

Em outubro de 1940, criado o Instituto Adolfo Lutz, pela fusão do Instituto Bacteriológico e do Laboratório de Análises Químicas e Bromatológicas, foi nomeado chefe da Sub-Divisão de Bromatologia e Química.

Foi designado, por ato de 20 de novembro de 1941, para fazer parte da Comissão que tinha por finalidade a revisão do Regulamento de Policiamento

Sanitário da Alimentação Pública, aprovado pelo Decreto n.º 10.657 de 31 de outubro de 1939.

Em julho de 1943, o Interventor Federal em São Paulo o enviou ao Rio de Janeiro, a fim de ultimar entendimentos sobre a uniformização de paradigmas e métodos analíticos dos serviços bromatológicos. Assinou, representando o Estado de São Paulo, o Convênio dos Gêneros Alimentícios com a Prefeitura do Distrito Federal, feliz resultado dos seus esforços no sentido de serem adotados os mesmos padrões, tipos, características, definições e processos analíticos, pelas duas maiores cidades brasileiras, São Paulo e Rio de Janeiro.

Representou o Instituto Adolfo Lutz, em fevereiro de 1944, junto ao Ministério da Agricultura, na Comissão de Fiscalização dos Produtos Alimentícios de Origem Animal e, ainda em agosto deste mesmo ano, participou das conversações que o Ministério da Agricultura realizou sobre a fiscalização das condições higiênicas e sanitárias das empresas que negociam com águas engarrafadas e estabelecendo normas para a referida fiscalização.

Por Decreto de 16 de janeiro de 1947, foi designado para assinar, em nome do governo de São Paulo, o convênio entre este Estado e o Distrito Federal, para adoção do Regulamento do Policiamento da Alimentação Pública. Neste mesmo mês, participou ainda do Vº Congresso Brasileiro de Química, patrocinado pela Associação de Química do Rio de Janeiro, de 24 de fevereiro a 2 de março de 1947, na cidade de Porto Alegre.

No ano seguinte, em fevereiro, integrou a comissão incumbida de estudar a regulamentação do uso do guaraná em bebidas refrigerantes e, em março, seguiu para o Rio de Janeiro, a fim de participar do reexame da questão.

Em abril de 1946, representou oficialmente o Instituto Adolfo Lutz, na Iª Jornada Brasileira de Bromatologia.

Foi nomeado, em 1951, diretor da Diretoria de Bromatologia e Química, cargo recém criado pela lei n.º 990/51, que deu nova estrutura legal ao Laboratório de Saúde do Estado.

Em 20 de setembro de 1951, foi designado pelo Governo do Estado para acompanhar os trabalhos da Comissão Executiva de Revisão da Farmacopéia, no Rio de Janeiro.

Como justo prêmio a essas múltiplas atividades, o Sr. Governador do Estado de São Paulo, pelo Decreto n.º 21.188, de 6 de fevereiro de 1952, conferiu-lhe o título de Servidor Emérito. A sala onde trabalhou, no Instituto Adolfo Lutz, foi denominada Sala Bruno Rangel Pestana.

Depois de quase cinquenta anos de contínua atividade, foi colhido pela compulsória e, no dia do seu septuagésimo aniversário natalício, foi aposentado.

Mesmo aposentado compulsoriamente, não abandonou o trabalho. O Instituto já faz parte integrante de sua vida.

No dia 15 de setembro de 1950, foi prestada, no Instituto Adolfo Lutz, significativa homenagem ao Servidor Emérito Bruno Rangel Pestana. Discursaram, então, o Secretário da Saúde, o diretor geral do Departamento de Saúde, o diretor geral da Secretaria da Saúde, o diretor do Instituto Adolfo Lutz e demais diretores, além de outras personalidades.

A saudação do diretor do Instituto Adolfo Lutz finalizou com as seguintes palavras:

“Dr. Bruno Rangel Pestana:

Nessa luta, a que denominamos Vida, o vosso espírito livre, devotado às cogitações da Ciência, pairou em plano acima do homem-massa, em que todo mundo se parece com todo mundo.

Aceitastes o conceito filosófico: ‘O homem que não deseja ser apenas um da massa tem de cessar de ser leniente para consigo mesmo’.

O êxito das pesquisas científicas bem orientadas depende do espírito de ordem e de disciplina. Disciplinar-se — eis um dos objetivos iniciais do pesquisador.

A vossa auto-disciplina vos possibilitou serdes exigente para com os outros.

Disciplinador e disciplinado, vos tornastes um comandante nato, porque aquêle que não pode obedecer a si próprio só pode ser mandado.

Mandar é mais difícil que obedecer. Aquêle que manda suporta a pesada carga de todos os que obedecem e essa carga, é necessário não ter ilusões, mais cedo ou mais tarde o esmaga.

Jamais encarastes a vida como um utilitarista na caça aos bens materiais, ou como u’a mera luta pela existência; ao contrário, colocastes mais acima os altos valores morais, capazes de trazer as mais puras alegrias espirituais que tornam a vida bela e mais digna de ser vivida.

Desprovido de ambição e de vaidade, apanágio dos indivíduos intelectualmente mais desenvolvidos, a vossa carreira vos tornou um paradigma para todos nós”.

Em resposta, Dr. Bruno Rangel Pestana assim terminou:

“Vejo e recebo esta manifestação mais como uma homenagem a Vital Brasil, que, no início de minha carreira científica, foi quem me orientou para os conhecimentos da Bacteriologia e para os trabalhos experimentais, a Adolfo Lutz, o criador da primeira Escola de Medicina Tropical no Brasil, a Baima, a Lindenberg, êsses amigos dedicados e a todos que trabalharam no Instituto Bacteriológico: ao prof. Ficker, que me orientou em Bacteriologia e Higiene; ao prof. Roberto Hottinger, da Escola Politécnica, que me encaminhou nos conhecimentos da Química; a Oswaldo Cruz e seus discípulos, salientando-se, entre êstes, Neiva, Chagas, Vasconcellos, Fontes e Henrique Aragão, particularmente êste último, a quem devo muito do que aprendi de Parasitologia; e a tantos outros que me transmitiram os seus ensinamentos”.

BIBLIOGRAFIA DO DR. BRUNO RANGEL PESTANA

- PESTANA, B. R. — Sobre o poder hemolytico das peçonhas de algumas especies brasileiras. Memoria apresentada ao VI Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia, São Paulo, 1907.
- PESTANA, B. R. — 1910 — O Nambyuvii. *Rev. Med. S. Paulo* 13: 423-426.
- PESTANA, B. R. — 1913 — Reação de Abderhalden para diagnostico da gravidez. *Ann. Paul. Med. Cir.* 1: 82-83.
- PESTANA, B. R. — 1914 — Notas sobre o tratamento da lepra. *Ann. Paul. Med. Cir.* 3: 10-13.
- PESTANA, B. R. — 1914 — Serotherapie anti-ophidica. *Ann. Paul. Med. Cir.* 3: 27-37.
- PESTANA, B. R. — 1914 — Vaccina e soro anti-pestoso do Instituto Serotherapico do Butantan. *Ann. Paul. Med. Cir.* 3: 53-60.
- PESTANA, B. R. — 1915 — A luta contra a diphteria — O soro anti-diphterico do Instituto Serotherapico do Butantan. *Ann. Paul. Med. Cir.* 4: 53-61.
- PESTANA, B. R. — 1915 — Notas sobre o veneno das cobras brasileiras. Imunidade natural. *Ann. Paul. Med. Cir.* 5: 120-130.
- PESTANA, B. R. — 1916 — Notas sobre o veneno de cobras de especies brasileiras. A substancia hemolytica. *Ann. Paul. Med. Cir.* 6: 108-112.
- PESTANA, B. R. — 1917 — Considerações acerca de alguns protozoarios e outros parasitas encontrados em fezes humanas. *Ann. Paul. Med. Cir.* 8: 101-113.
- PESTANA, B. R. — 1918 — A febre typhoide em São Paulo. *Ann. Paul. Med. Cir.* 9: 101-115, 123-136, 149-164.
- PESTANA, B. R. — 1919 — Algumas notas sobre a pharmacopéia paulista. *União Pharmaceutica* 4: 119.
- PESTANA, B. R. — 1937 — Considerações epidemiologicas a respeito da febre amarella e da febre amarella sylvestre. *Ann. Paul. Med. Cir.* 34: 441-485.
- PESTANA, B. R. — 1940 — Tipos de bacilos tíficos e seu valor epidemiológico. *Ann. Paul. Med. Cir.* 39: 19-25.
- PESTANA, B. R. — 1941 — Da meningite tuberculosa. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 1: 40-54.
- PESTANA, B. R. — 1944 — Considerações epidemiológicas a respeito do tifo exantemático em São Paulo. *An. Paul. Med. Cir.* 43: 287-347.
- PESTANA, B. R. — Profilaxia da leishmaniose. Anais da Jornada de Economia Rural. São Paulo, Secretaria da Agricultura, 1947; p. 116.
- PESTANA, B. R. e M. F. Q. FERREIRA — 1939 — Diagnóstico bacteriológico de difteria por métodos rápidos. *Ann. Paul. Med. Cir.* 38: 393-399.
- PESTANA, B. R. e M. F. Q. FERREIRA — 1943 — Considerações sobre algumas propriedades bioquímicas do bacilo da difteria. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 3: 32-43.
- PESTANA, B. R. e S. B. PESSOA — 1939 — Leishmaniose tegumentar autoctone no municipio de S. Paulo. *Ann. Paul. Med. Cir.* 38: 435-442.
- PESTANA, B. R. e M. C. de ANDRADE — 1940 — Contribuição ao estudo do grupo coliforme e sua significação nos exames de água. *Ann. Paul. Med. Cir.* 39: 435-466.

- PESTANA, B. R. e M. J. FARACO — 1940 — Do emprégo do meio de agar-desoxicolato de sodium-citrato (Leifson) para isolar bacilos disentéricos. *Ann. Paul. Med. Cir.* 40 : 307-314.
- PESTANA, B. R. e M. J. FARACO — 1942 — Exame bacteriológico de fezes. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 2 : 269-287.
- PESTANA, B. R. e E. RUGAI — 1940 — Salmonelas isoladas de líquido céfalo-raquidiano. *Ann. Paul. Med. Cir.* 39 : 373-378.
- PESTANA, B. R. e E. RUGAI — 1943 — Contribuição ao estudo das pasteurelas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 3 : 59-74.
- PESTANA, B. R. e E. RUGAI — 1943 — O porco normal como portador de salmonelas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 3 : 232-235.
- PESTANA, B. R. e E. RUGAI — 1947 — Da presença de salmonelas nas carnes preparadas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 7 : 5-7.
- PESTANA, B. R. e E. LIMA — 1942 — Estudo comparativo da contagem de germes do leite em placas de ágar standard e ágar-leite-triptona-glicosado e incubadas às temperaturas de 32 e 37°C. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 2 : 18-33.
- PESTANA, B. R. e L. Q. TELLES — 1947 — Membros manita-indol-negativos do género *Shigella*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 7 : 8-40.
- PESTANA, B. R., S. B. PESSOA e A. CORREA — 1939 — Notas sobre a leishmaniose no município de Marília, São Paulo. *Folha Médica* 20 : 97-98.
- PESTANA, B. R., J. PLANET DO AMARAL e L. P. BARRETO NETO — 1939 — Tipos de *C. difteriae* em São Paulo. *Mem. Inst. Butantan* 13 : 407-430.
- PESTANA, B. R., M. ARANTES e E. RUGAI — 1941 — Pasteurelose humana. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 1 : 357-360.
- PESTANA, B. R., M. S. MELLO, M. E. W. DE ALMEIDA e J. TAVARES — Contribuição para a padronização dos métodos físicos e químicos para análise de alimentos e bebidas. Trabalho apresentado à I Jornada Brasileira de Bromatologia, São Paulo, abril de 1946.

OBRAS EM COLABORAÇÃO

- BAYMA, T. e B. R. PESTANA — 1916 — Pseudo-areia intestinal. *Ann. Paul. Med. Cir.* 6 : 82-83.
- BAYMA, T. e B. R. PESTANA — Parasitismo intestinal nos imigrantes japoneses. São Paulo, Tip. Diario Oficial, 1918.
- BRAZIL, VITAL e B. R. PESTANA — 1909 — Nova contribuição ao estudo do envenenamento ophidico. *Rev. Med. S. Paulo* 12 : 375-379, 415-425, 439-444 ; 1910, 13 : 61-64, 161-164.
- CALAZANS, C. e B. R. PESTANA — 1932 — Emprego do acido rosolico no isolamento e identificação dos bacillos do grupo coli-typhico-dysenterico em meios solidos. *Mem. Inst. Butantan* 7 : 285-302.
- LINDENBERG, A. e B. R. PESTANA — 1929 — Ensaio de chimioterapia sobre os germens acidos resistentes. *Brasil Medico* 34 : 603.

- LINDENBERG, A. e B. R. PESTANA — 1921 — Chemotherapeutisch Versuche mit fetten ad Kulturen Saurefester Bacillen. *Ztschr. f. Immunitätsforsch u. exper. Therap.* **32** : 66.
- PEREIRA, J. e B. R. PESTANA — 1927 — A adrenalina perde as suas propriedades pharmacodynamicas? Resumo do trabalho apresentado à sessão de 8 de fevereiro de 1927. *Ann. Soc. Biol. Hyg.* (S. Paulo) **1** : 115.
- PEREIRA, J. e B. R. PESTANA — 1929 — Sobre a actividade pharmacodynamica dos productos de oxydação da adrenalina. *Ann. Paul. Med. Cir.* **20** : 33-34.
- PESSOA, S. B. e B. R. PESTANA — 1939 — Lesões iniciais na leishmaniose tegumentar americana. *Acta Medica* **4** (6) : 267-271.
- PESSOA, S. B. e B. R. PESTANA — 1940 — A intradermo-reação de Montenegro nas campanhas sanitárias contra a leishmaniose. *S. Paulo Médico* **2** : 133-151.
- PESSOA, S. B. e B. R. PESTANA — 1940 — Ensaio sobre a vacinação preventiva na leishmaniose tegumentar americana, com germens mortos. *Rev. Biol. Hyg.* **10** : 112-118.
- PESSOA, S. B. e B. R. PESTANA — 1940 — Infecção natural do *Phlebotomus migonei* por formas em leptomonas, provavelmente da leishmaniose *braziliensis*. *Acta Medica* **5**(2) : 106-111.
- PESSOA, S. B. e B. R. PESTANA — 1940 — Leishmaniose tegumentar urbana. *Arq. Hig. Saúde Púb.* **3** : 47-55.
- PESSOA, S. B. e B. R. PESTANA — 1940 — Sobre a disseminação da leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo : *Fôlha Médica* **21** : 20-23.
- VILLELA, F., B. R. PESTANA e S. B. PESSOA — 1939 — Presença da *Leishmania braziliensis* na mucosa nasal sem lesão aparente, em casos recentes de leishmaniose cutânea. *Hospital* **16** : 953-960.



CONSIDERAÇÕES EM TÔRNO DA OCORRÊNCIA DE OVOS DE NEMATÓDIOS DA FAMÍLIA *HETERO-* *DERIDÆ* EM FEZES HUMANAS.

por

JAIR CORRÊA CARVALHO

do Instituto Biológico

e

MARCELO OSWALDO ÁLVARES CORRÊA

do Instituto Adolfo Lutz

Com o presente estudo, visamos difundir noções de Nematologia do solo aplicada à Medicina, bem como estabelecer certas normas fundamentais de sistemática da família *Heteroderidae* que não têm sido devidamente consideradas pelos helmintologistas. Prendem-se estas considerações à ocorrência, em fezes humanas, de ovos de nematódios parasitas de plantas, rotulados, até o momento atual, como pertencentes à espécie *Heterodera marioni*.

Com efeito, a ocorrência de ovos de vermes parasitos de plantas em fezes humanas é relativamente freqüente entre nós, devido ao fato de muitos de nossos produtos alimentares serem por eles parasitados, particularmente a batatinha, que ocupa o primeiro lugar como veículo d'esses vermes. Sendo alimento de larga aceitação, cultivado em quase tôdas as regiões do mundo, sofre a batatinha o ataque de muitos inimigos de origem vegetal e animal, em particular dos nematódios que muito prejudicam a sua produção.

A batatinha é plantada entre nós em duas épocas distintas: a primeira vai desde a 2.^a quinzena de agosto até meados de outubro e a sua colheita é chamada "das águas" porque é feita no período chuvoso e a segunda inicia-se em janeiro, chegando até março, sendo esta a colheita "da seca" porque se efetua nos meses secos. Em geral, a colheita "da seca" não é tão infestada quanto a "das águas", em virtude da falta de umidade do solo que torna o meio impróprio ao desenvolvimento dos nematódios parasitários. Por outro lado, os tubérculos colhidos na época das chuvas apresentam-se muito atacados pelos parasitas, o que é denunciado por pequenas saliências da casca sob a forma de entumescências arredondadas, conhecidas pelo nome de "pipocas" ou "galhas", visíveis a olho nú. A batatinha assim infestada é conhecida vulgarmente pelo nome de tubérculo empipocado e a sua

desvalorização pode chegar a ser total, servindo apenas para a alimentação de suínos. Essas pipocas (Fig. 1) contêm muitos vermes, na maioria fêmeas, algumas delas com verdadeiros aglomerados de ovos. As operações culinárias de lavagem e eliminação da casca retiram apenas os vermes superficiais, ficando os mais profundos, que podem ser ingeridos com os alimentos, sendo seus ovos eliminados pelas fezes, não ocorrendo jamais o parasitismo humano.

HISTÓRICO

A primeira verificação da presença de ovos dessa natureza em fezes humanas ocorreu no Estado do Texas, EE. UU., onde Kofoid e White, em 1919, os descobriram em fezes de soldados, dando-lhes o nome de *Oxyuris incognito*. Em 1923, Sandground demonstrou que êsses ovos coincidiam, sob todos os aspectos, com aquêles do nematódio parasito de plantas, então conhecido como *Heterodera radiculicola* (Greeff, 1872), Müller, 1884, e desde então a diagnose de tais ovos passou a ser feita como ovos de *Heterodera radiculicola* e, posteriormente, com a modificação da nomenclatura proposta por GOODEY (1932) para ovos de *Heterodera marioni*, (Cornu, 1879), Goodey, 1932.

Ora, Greeff, em 1872, encontrou, em galhas de raízes de gramíneas, um helminto, ao qual deu o nome de *Anguillula radiculicola*. Cornu, em 1879, na França, descreveu um parasita produtor de galhas numa leguminosa — *Onobrychis sativa* — dando-lhe o nome de *Anguillula marioni*. Em 1881, Schmidt, estudando o helminto parasita da beterraba e responsável pelo então chamado “cansaço do solo” para a produção de beterraba, descreveu o gênero *Heterodera* com a sua espécie típica, *Heterodera schachtii* Schmidt, 1881.

Müller, em 1884, examinando helmintos produtores de galhas em planta das Escrofulariáceas e julgando, erroneamente, serem os mesmos idênticos aos descritos, em 1872, por Greeff, sob o nome de *Anguillula radiculicola*, pretendeu demonstrar que êles pertenciam ao gênero *Heterodera* e não teve dúvidas em mudar sua denominação para *Heterodera radiculicola* (Greeff, 1872), Müller, 1884. Êste nome foi bem aceito até 1932, quando Goodey demonstrou que o nematódio descrito por Greeff, *Anguillula radiculicola*, não era relacionado com o gênero *Heterodera* — como erroneamente o fizera Müller — e transferiu-o para o gênero *Anguillulina*, de onde foi posteriormente reclassificado por Filipjev, que o incluiu no gênero *Ditylenchus*, com o nome de *Ditylenchus radiculicola* (Greeff, 1872), Filipjev, 1936. Para o outro nematódio causador de galhas em raízes, descrito por Cornu, em 1879, *Anguillula marioni*, e já então incluído no gênero *Heterodera* por Müller, Goodey, atendendo às regras de nomenclatura zoológica, deu-lhe o nome de *Heterodera marioni* (Cornu, 1879), Goodey, 1932.

No Brasil, já se conhecia, desde 1878, a existência de uma helmintose parasitária nas raízes dos cafeeiros da então província do Rio de Janeiro, cujo agente patogênico fôra identificado por Jobert, em 1878, como *Anguillula*. GÖELDI (1892), chamado para estudar a doença d'esses cafeeiros, depois de cuidadoso estudo, concluiu que se tratava de um novo parasita, não relacionado com *Heterodera* ou *Anguillula*, criando para êle um novo gênero e espécie: *Meloidogyne exigua*. O novo gênero foi posteriormente considerado pela maioria dos autores como idêntico ao gênero *Heterodera* e a espécie *M. exigua* passou à sinonímia de *Heterodera radicumicola* e, posteriormente, *H. marioni*.

CHITWOOD (1949), reexaminando o gênero criado por Göeldi, considerou válido o gênero *Meloidogyne*, ao qual pertencem as espécies até então conhecidas entre nós pelo nome de *Heterodera marioni* ou *Heterodera radicumicola*, que assim foram designadas em função da época em que os estudos a respeito foram efetuados. Segundo refere CARVALHO (1951), Carneiro, em 1935, em São Paulo, Brasil, sob o nome de *Heterodera radicumicola*, observou um parasita em raízes de algodoeiro e em figueira; sob o nome de *Heterodera marioni*, em tomateiro; outros técnicos também observaram, em plantas diversas, um parasita sob o mesmo nome: Drummond, em craveiro, em soja, em pepino e tremoço; Arruda, em boca de leão; Gonçalves, em batatinha e em cafeeiro; Rossetti, em quiabeiro silvestre; Andrade, em salsão e em dália; Abrahão, em girassol; Campaci, em alfafa; Lepage e Giannotti, em jaca-tupê.

CARVALHO (1951) pesquisou parasitas de tubérculos e das raízes das seguintes plantas: cafeeiro (*Coffea arabica* L.), beterraba (*Beta vulgaris* L.), espinafre (*Spinacia oleracea* L.), sultana (*Impatiens sultani* Hook), ameixeira (*Prunus domestica* L.), pessegueiro (*Prunus persica* L.), amoreira (*Rubus* sp.), couve (*Brassica oleracea* L.), rabanete (*Raphanus sativus* L.), cana de açúcar (*Saccharum officinarum* L.), trigo (*Triticum vulgare* Vil), milho (*Zea mays* L.), cenoura (*Daucus carota* L.), batata doce (*Ipomoea batatas* Lam), abacaxi (*Ananas sativus* Schult), maracujá (*Passiflora alata* Ait), batatinha (*Solanum tuberosum* L.), tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.), fumo (*Nicotiana tabacum* L.), pimenta (*Capsicum annuum* L.), herba de bicho (*Solanum nigrum* L.), beringela (*Solanum melongena* L.), algodoeiro (*Gossypium herbaceum* L.), quiabeiro (*Hibiscus esculentus* L.), guaxuma (*Sida* sp.), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), ervilha (*Pisum sativum* L.), guandú (*Cajanus indicus* Spreng), amendoim (*Arachis hypogaea* L.), alfafa (*Medicago sativa* L.), jacatupê (*Pachyrhizus tuberosus* Spreng), figueira (*Ficus carica* L.), aboboreira (*Cucurbita maxima* Duch), melancia (*Citrullus vulgaris* Schrad), pepino (*Cucumis sativus* L.).

Carvalho, em tôdas essas plantas, encontrou *Meloidogyne* sp. parasitando as raízes e partes subterrâneas. O referido autor dedicou especial aten-

ção aos tubérculos da batatinha, examinando regular quantidade de amostras provenientes das duas regiões produtoras mais importantes do Estado de São Paulo: São João da Boa Vista e Monte-Mór. Encontrou numerosos exemplares de fêmeas e alguns machos, cujo exame não deixou dúvida em se tratar de uma espécie do gênero *Meloidogyne* e registra a sua surpresa em não ter encontrado o "golden-nematode" *Heterodera rostochiensis* Wollenweber, 1923, tão freqüente nos EE. UU. e na Europa.

Verificamos, por conseguinte, que os nematódios produtores de galhas em tubérculos comestíveis, possíveis, pois, de serem ingeridos com seus ovos na alimentação do homem, entre nós, pertencem ao gênero *Meloidogyne* e provavelmente à espécie *M. incognita*, conforme posteriores verificações de Carvalho.

Todavia, para maior rigor, seria melhor, por enquanto, a designação genérica *Meloidogyne* sp. e o resultado do encontro positivo para tais ovos em fezes humanas assim seria assinalado: "encontramos ovos de *Meloidogyne* sp."

No quadro seguinte, verificamos a incidência de ovos de *Meloidogyne* sp., nos exames parasitológicos realizados no Instituto Adolfo Lutz.

QUADRO 1

Incidência de ovos de *Meloidogyne* em fezes humanas.

ANO	TOTAL DE EXAMES FEITOS	TOTAL DE EXAMES POSITIVOS PARA VERMINOSE	TOTAL DE EXAMES POSITIVOS PARA <i>MELOIDOGYNE</i> SP.
1942.....	5.940	3.883	38
1943.....	5.851	3.437	40
1944.....	6.137	3.828	52
1945.....	7.716	4.773	130
1946.....	6.014	4.000	81
1947.....	7.039	4.481	89
1948.....	8.254	4.923	101
1949.....	9.014	5.569	112
1950.....	9.134	5.228	64
1951.....	10.523	6.413	126
	75.622	46.540	833

SISTEMÁTICA

O gênero *Meloidogyne* faz parte da subfamília *Heteroderinæ*, família *Heteroderidæ*, superfamília *Tylenchoidea*.

Fam. *Heteroderidæ* : machos vermiformes, com cauda curta e arredondada, sem bolsa.

Fêmeas piriformes ou em forma de limão.

Gênero *Meloidogyne* Göeldi, 1887.

Espécie típica : *Meloidogyne exigua* Göeldi, 1887.

Sinônimos *Caconema* Cobb, 1924 (Espécie típica : *C. radicolica* dos autores).

Heteroderinæ : Dimorfismo sexual acentuado. Machos vermiformes, fêmeas em forma de péra, ou de esferóides com pescoço alongado. Machos com cabeça munida de bochechas laterais ; com um ou dois testículos. Fêmeas com corpo mole, cutícula nunca formando um cisto coriáceo duro. Vulva subterminal com dois lábios hemisféricos. Anus situado à margem do lábio posterior da vulva. Cutícula da fêmea com estrias transversais simples, formando, na região perineana, um desenho parecido com a impressão digital de um dedo, mas nunca um tipo como renda. Ovos nunca retidos, mas depositados numa massa gelatinosa. Larvas com cabeça mais ou menos lisa (sem estriações distintas ou com 2 ou 3 estriações mal esboçadas e nenhuma marca hexagonal) ; estilete com cerca de 10 μ de comprimento. Causa entumescência ou galhas nas raízes dos hospedeiros ; as fêmeas maduras vivem dentro das raízes.

O gênero *Heterodera* pode ser diferenciado de *Meloidogyne* pelo seguinte : a parede do corpo da fêmea forma um cisto duro característico ; a camada cuticular é completamente engrossada e geralmente há uma pontuação como renda. Os ovos são pelo menos parcialmente retidos no corpo da fêmea, que age como um cisto protetor. O macho não tem bochechas laterais, mas a cabeça tem sulcos dividindo a região em seis setores ; estes sulcos e setores estão também presentes na larva após a eclosão ; estriações anelares, na região cefálica, proeminentes em macho e larva. Estilete da larva 20-29 μ de comprimento. O anus das fêmeas varia de posição, mas nunca é situado à margem do lábio posterior da vulva. Geralmente não forma galhas em seus hospedeiros ; as fêmeas maduras tendem a ficar localizadas na superfície externa das raízes.

CÍCLO DE VIDA

Após a eclosão dos ovos, as larvas emigram através do solo, em busca da ponta das raízes hospedeiras, cujos tecidos moles facilitam a sua penetração. As larvas, no primeiro estágio, medem 0,27 a 0,50 de comprimento, por 0,012 a 0,015 de largura (Fig. 2). Uma vez penetrado, o verme torna-se sedentário, permanecendo seu corpo no tecido cortical ; com o estilete bucal injeta a secreção das glândulas esofágicas ou salivares no tecido vascular. As

células do tecido vegetal nas proximidades da cabeça do verme, excitadas por essa substância, começam a crescer para formar as chamadas células gigantes, também conhecidas pelo nome de células nectarianas, das quais o nematóide absorve o seu alimento durante toda a vida; o aparecimento dessas células gigantes dá origem à formação das galhas. Assim alimentada, a larva começa a se desenvolver, engrossando o corpo rapidamente; em seguida, toma a forma de salame (Fig. 3) e, finalmente, a forma de pêra ou frasco (Fig. 7) que, às vezes, pode ser vista a olho nú. Em condições favoráveis, o desenvolvimento completo pode se dar em três ou quatro semanas, mas, em temperatura abaixo da ótima, é necessário maior espaço de tempo. Uma única fêmea pode produzir de 400 a 500 ovos, mas tem sido encontrado fêmeas com saco gelatinoso, contendo muito maior número de ovos e, por isso, calcula-se ser possível uma fêmea pôr até 2.000. Os ovos variam muito de tamanho; segundo Goodey, 1932, essa variação vai de 67μ a 128μ de comprimento e 30μ a 52μ de largura. Têm forma elipsóide e, às vezes, ligeiramente côncavo de um lado (Fig. 5).

As fêmeas passam por quatro ecdizes, no curso do seu desenvolvimento, segundo a opinião de NAGAKURA (1930). As fêmeas maduras medem de 0,4 mm a 1,3 mm de comprimento (fora o pescoço) e de 0,27 mm a 0,75 mm de largura. Estilete de 10μ a 12μ . Machos: comprimento de 1,2 mm a 1,5 mm por 0,03 mm a 0,36 mm de largura. Estilete: 18μ a 20μ de comprimento (Fig. 6).

HOSPEDEIROS

As espécies de *Meloidogyne* são facilmente adaptáveis aos diversos hospedeiros, cujo número já sobe a mais de 1.800 plantas de numerosas famílias, distribuídas pelas regiões tropicais, subtropicais e temperadas. Apesar de serem parasitas de raízes, têm sido encontrados, algumas vezes, causando galhas em hastes e folhas de plantas novas. Em tubérculos, rizomas e bulbos é freqüente sua presença causando nodosidades ou galhas.

Não sendo de interesse enumerar todos os hospedeiros já relacionados na literatura, limitamo-nos a assinalar aqueles que, por servirem de alimento ao homem, são também o veículo de introdução desses parasitas em seu aparelho digestivo.

Hospedeiros de *Meloidogynes* sp :

Batatinha	(<i>Solanum tuberosum</i> L.)
Cenoura	(<i>Daucus carota</i> L.) (ibid.)
Mangarito	(<i>Xanthosoma sagittifolium</i> Vent.)
Batata doce	(<i>Ipomæa batatas</i> Poir.)

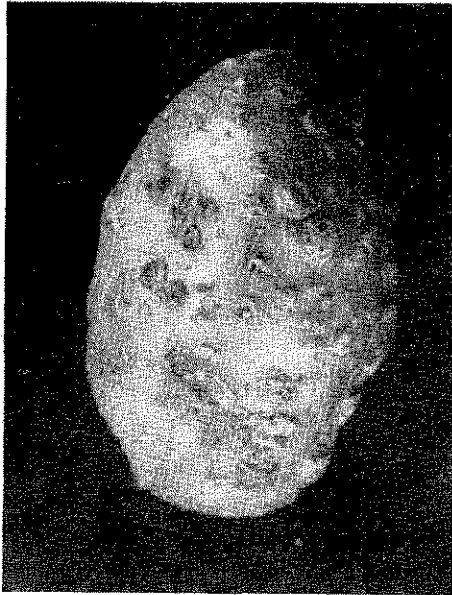


Fig. 1 — Tubérculo de batatinha empipocado.



Fig. 2 — *Meloidogyne*. Larvas do primeiro estágio.



Fig. 3 — *Meloidogyne*. Larva em forma de salame.



Fig. 4 *Meloidogyne*. Fêmea madura em forma de frasco.

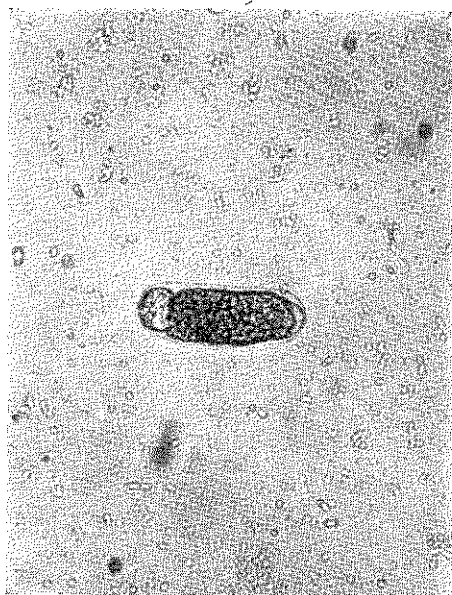


Fig. 5 — *Meloidogyne*. Ovo.

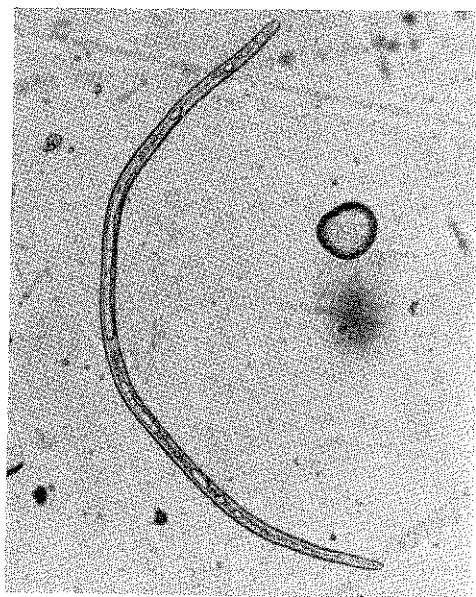


Fig. 6 — *Meloidogyne*. Macho.

Mandioca	(<i>Manihot utilissima</i> Pohl.)	(ibid.)
Cará	(<i>Dioscorea illustrata</i> Hort.)	(ibid.)
Beterraba	(<i>Beta vulgaris</i> L.)	(ibid.)
Mandioquinha	(<i>Didymopanax macrocarpum</i> Seem.)	
Rabanete	(<i>Raphanus raphanistrum</i> L.)	
Inhame	(<i>Calocasia antiquorum</i> Schott.)	
Aipo	(<i>Apium graveolens</i> L.)	(ibid.)
Nabo	(<i>Brassica napus</i> L.)	(ibid.)

De todos êsses hospedeiros, a batatinha é, sem dúvida, o mais importante como alimento e como veiculador dos seus parasitas para os intestinos do homem. A fig. 7 é um tubérculo cortado ao meio e tratado com solução de iodo para colorir o amido. As manchas esbranquiçadas revelam a presença do verme que destruiu o amido existente ao seu redor. Por essas manchas, pode-se ver como o verme se localiza fundo no tubérculo e, por isso, não pode ser eliminado quando descascado.

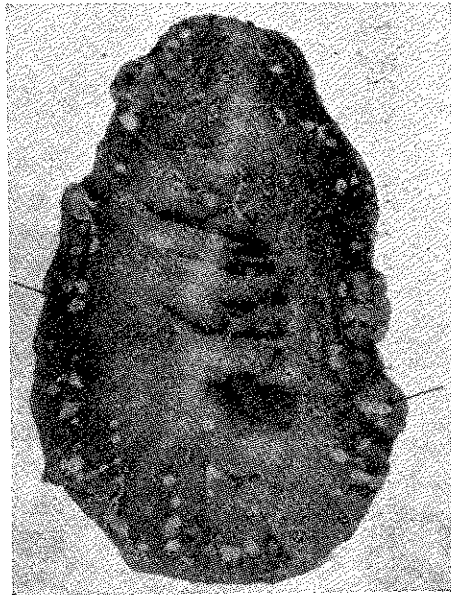


Fig. 7 — Tubérculo de batatinha, parasitado por *Meloidogyne*, cortado e tratado com iodo para mostrar a destruição do amido ao redor do verme.

Pode parecer estranho a muitos que a ocorrência de ovos e vermes de parasitas de plantas em fezes humanas, como ocorre entre nós, não seja

frequente na Europa, nos países de clima temperado que são grandes produtores e consumidores de batatinha, como Inglaterra, Alemanha, Holanda e outros e na América, Canadá e parte norte dos Estados Unidos, mas o fato é que, nessas regiões, o nematóide mais prejudicial à batatinha é *Heterodera rostochiensis* Wollenweber, 1923, que os americanos chamam "golden-nematode". Este verme é parasita quase exclusivo da batatinha e a ela causa enormes prejuízos. Não penetra nos tubérculos, que são colhidos limpos e livres de ovos e vermes, mas penetram nas raízes, ficando no tecido cortical, com a cabeça nas proximidades do tecido vascular, de onde lhe provém o alimento. As fêmeas, quando completam o desenvolvimento, tomam a forma de limão, permanecendo fora da raiz, agarrada a ela; a cutícula endurecida toma a cor amarelada (que lhe valeu o nome dado pelos americanos), para se transformar no cisto protetor dos ovos, que assim se conservam por longo tempo.

O gênero *Heterodera* conta muitas outras espécies, tais como *H. schachtii*, que prejudica grandemente a cultura da beterraba, *H. göttingiana*, *H. punctata*, *H. major*, *H. cruciferae*, as quais, até o presente, ainda não foram encontradas em nossos solos. Como somente espécies de *Meloidogyne* têm sido observadas em plantas utilizadas na alimentação do homem, acreditamos que os ovos encontrados nas fezes sejam das espécies desse gênero.

CONCLUSÕES

1.º) Os estudos realizados entre nós demonstram que todos os nematódios produtores de galhas em raízes e tubérculos alimentícios pertencem ao gênero *Meloidogyne*.

É, pois, evidente que os ovos encontrados em fezes humanas, anteriormente designados como sendo de *Heterodera marioni*, devem passar a sê-lo corretamente como sendo ovos de *Meloidogyne sp.*

2.º) Em outras regiões e países onde existem, além de várias espécies de *Meloidogyne*, espécies de *Heterodera*, principalmente a *Heterodera rostochiensis* — o "golden-nematode" — já a diagnose dos ovos encontrados se torna duvidosa, sendo preferível designá-los por ovos de *Heteroderidae*.

SUMÁRIO

Os autores historicam a evolução da nomenclatura de *Heterodera marioni*, iniciando pelo achado de seus ovos em fezes humanas por Kofoid e White, em 1919, que o denominaram *Oxyuris incognito*. Após detalhada discussão, demonstram pertencer esse nematódio parasito das plantas ao gênero *Meloidogyne*, descrito por Göeldi, em 1892, no Brasil.

Referem, a seguir, os estudos regionais de sua incidência em vegetais e, em particular, as pesquisas de Carvalho em batatinhas, nas quais apenas encontrou *Meloidogyne sp.* como parasito. Descrevem sua sistemática, seu ciclo de vida e seus hospedeiros, referem sua incidência nos exames parasitológicos realizados no Instituto Adolfo Lutz e chegam às conclusões seguintes :

1.º) Os estudos realizados entre nós demonstram que todos os nematódios produtores de galhas em raízes e tubérculos alimentícios pertencem ao gênero *Meloidogyne*. É, pois, evidente que os ovos encontrados em fezes humanas, anteriormente designados como sendo *Heterodera marioni*, devem passar a sê-lo, corretamente, como ovos de *Meloidogyne sp.*

2.º) Em outras regiões e países onde existem, além de várias espécies de *Meloidogyne*, espécies de *Heterodera*, em particular a *Heterodera rostochiensis* — “golden-nematode” — já a diagnose dos ovos encontrados se torna duvidosa, sendo preferível designá-los por ovos de *Heteroderidae*.

SUMMARY

The nomenclature of *Heterodera marioni* is discussed. It is recalled that its eggs were first found, in 1919, in human stools by Kofoid and White who called the parasite *Oxyuris incognito*. In this paper, the authors show that this nematode belongs in the genus *Meloidogyne*, which was described by Göeldi, in 1892, in Brazil.

Reports of its regional incidence in plants are discussed. Special reference is made to researches made by Carvalho in potatoes in which only *Meloidogyne sp.* was found as parasite.

A detailed study of the parasite is made with special reference to its classification, life cycle and hosts.

The authors report the frequency with which the eggs of the parasite are found in human stools examined for parasites in the “Instituto Adolfo Lutz” of São Paulo (Brazil).

The following conclusions are reached :

1st.) Researches made in São Paulo (Brazil) show that all nematodes responsible for galls in edible roots and tubercles belong in the genus *Meloidogyne*. It becomes clear that the eggs previously described as being of *Heterodera marioni* and found in human stools should be henceforth classified as eggs of *Meloidogyne sp.*

2nd.) In other countries where, besides several species of *Meloidogyne*, some species of *Heterodera*, specially *Heterodera rostochiensis* (the “golden-nematode”), are found, the correct diagnosis of eggs of parasites becomes difficult. It seems better to designate them as eggs of *Heteroderidae*.

BIBLIOGRAFIA

- CARVALHO, J. C. — 1951 — Nematóides das raízes encontrados em São Paulo. *Arq. Inst. Biol.* **20**: 165-172.
- CHITWOOD, B. G. — 1949 — Root-knot nematodes. A revision of the genus *Meloidogyne* Göeldi, 1887. *Proc. Helminth. Soc. Washington* **16**: 90-104.
- FILIPJEV, I. — 1936 — On the classification of the Telenchinae. *Proc. Helminth. Soc. Washington* **3** (2) 80-82.
- GÖELDI, E. A. — 1892 — Relatório sobre a molestia do cafeeiro na Província do Rio de Janeiro. *Arch. Mus. Nac.* **8**: 9-123.
- GOODEY, T. — 1932 — On the nomenclature of the rootgall nematodes. *J. Helminthology* **10** (1): 21-28.
- GOODEY, T. — Plant parasitic nematodes and the diseases they cause. London, Methuen & Co., 1933.
- NAGAKURA, K. — 1930 — Ueber den Bau und die Lebensgeschichte der Heterodera radicolica (Greeff) Müller. *Jap. J. Zool.* **3** (3) 95-160.
-



CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA FLORA BACTERIANA DAS SINUSITES ; VERIFICAÇÃO DE SUA SENSIBILIDADE AOS ANTIBIÓTICOS

por

AUGUSTO DE E. TAUNAY

Do Instituto Adolfo Lutz

e

MAURO CÂNDIDO DE SOUZA DIAS

Da Santa Casa de São Paulo

(Serviço do Dr. Mário Ottoni de Rezende)

Os progressos feitos, recentemente, no campo da terapêutica anti-infecciosa, com a descoberta de novos agentes quimioterápicos e dos antibióticos, vieram realçar a importância em se saber, exatamente, qual o agente infeccioso em causa e, ao mesmo tempo, verificar o medicamento mais útil para o caso.

FLEMING (1947) prescreve regras simples que, a nosso ver, são essenciais para o tratamento de qualquer infecção bacteriana e assim podem ser generalizadas :

- 1) Só deve ser usado um antibiótico quando houver uma infecção produzida por um germe a êle sensível.
- 2) Deve o antibiótico ser administrado de tal modo que possa haver contacto com o agente infectante.
- 3) A dose deve ser tal que, na área infectada, haja uma concentração da droga suficiente para destruir a bactéria.
- 4) O tratamento deve durar até que a infecção seja debelada.

Por motivos alheios a nossa vontade, não nos foi possível realizar um trabalho que se enquadre, totalmente, dentro destes quatro itens. Procuramos verificar quais os germes mais comumente encontrados nas afecções dos seios paranasais e quais os antibióticos, mais comumente usados entre nós, capazes de inibir, "in vitro", tais germes.

Naturalmente não pretendemos afirmar que todos os germes por nós isolados sejam responsáveis pelo processo sinusal, mas podemos admitir que muitos deles sejam realmente os causadores da afecção sinusal.

Desde muito é sabido que as fossas nasais possuem uma flora nasal constituída, em geral, por estafilococos e por bacilos difteróides, sendo pouco freqüentes estreptococos e cocos Gram-negativos do tipo *Neisseria pharyngis* (WILSON e MILES, 1946). Essa flora não é fixa e pode variar com as estações do ano, mas, de um modo geral, são êsses os germes que aí predominam.

Já as cavidades sinusais parecem ser estéreis (TORNE, 1936).

Sabendo-se que muitos germes, em determinadas circunstâncias, podem invadir as cavidades sinusais, pareceu-nos interessante verificar, à semelhança do que já fôra feito em outros países, quais os germes mais freqüentes nos processos inflamatórios sinusais e qual a ação, "in vitro", dos vários antibióticos sôbre êles, uma vez que, hoje em dia, é ponto pacífico a resistência que uma bactéria pode desenvolver a determinado antibiótico. A verificação do aparecimento de formas de resistência à penicilina em algumas bactérias sensíveis fôra observada por Fleming. A explicação de um dos mecanismos pelo qual se processa êsse fato foi demonstrada por ABRAHAM e CHAIN (1940), quando verificaram a inativação da penicilina por uma substância, semelhante a uma enzima, que êles denominaram de penicilinase. A produção de penicilinase foi verificada em muitas bactérias penicilino-resistentes e a sua presença provoca a resistência da bactéria ao antibiótico, podendo ainda perturbar a terapêutica pela penicilina, pois que, no caso de haver uma infecção mixta, sendo um dos germes produtor da penicilinase, esta, inativando a penicilina, faz com que não tenha ação sôbre as outras bactérias sensíveis. Muitas vêzes, no grupo das bactérias sensíveis à penicilina, vamos encontrar certas cepas produtoras de penicilinase, portanto penicilino-resistentes.

SPINK, HALL e FERRIS (1945), fazendo estudos sôbre o estafilococo, acreditam que êste apresente dois tipos de resistência à penicilina. O primeiro seria temporário, poderia ser produzido "in vitro" e não estaria associado a produção de penicilinase. O segundo ocorre nos doentes tratados pela penicilina, nos quais provoca o aparecimento de cepas permanentemente resistentes, devido à sua capacidade em produzir penicilinase.

SPINK (1951) chama a atenção para êste fato, mostrando a possibilidade de um indivíduo ser infectado por uma amostra de estafilococo penicilino-resistente, o qual tornou-se altamente resistente, em conseqüência do tratamento, inadequado ou não, pela penicilina; tal germe adquire êsse caráter de forma permanente conservando a mesma capacidade invasora da cepa de origem. Assim, indivíduos que nunca foram tratados pela penicilina podem ser infectados por estafilococos penicilino-resistentes.

Não há dúvida que o aumento de número de amostras resistentes está relacionado ao uso generalizado dos antibióticos em doses talvez inadequadas (J.A.M.A., 1951).

As observações de BARBER e ROZWADOWSKA (1948) comprovam o que ficou dito acima ; quando, estudando 100 casos de infecção por estafilococos piogênicos num hospital, verificaram que, em 1948, em 59% de casos, o germe era resistente à penicilina ; em 1947, 38%, e em 1946, 14,1%, podendo, assim, estabelecer ligação entre a maior resistência à droga ao uso generalizado da penicilina.

SPINK (1951) fêz algumas observações sôbre o mesmo problema com relação a outros antibióticos : estreptomina, aureomicina e cloranfenicol.

DAVISON (1950), notando que os resultados que obtinha no tratamento das sinusites pela penicilina não eram tão satisfatórios como nos anos anteriores, comparou a sensibilidade à penicilina das bactérias isoladas atualmente e às de anos anteriores. Conclui que, em 1945, 80% dos cocos Gram-positivos isolados do exsudato sinusal eram inibidos por uma concentração de 0,2 unidades de penicilina por ml, ao passo que, em 1950, sômente 12% eram sensíveis à mesma concentração da droga.

O mesmo autor (1951) também atribui a maior resistência de certas bactérias à penicilina ao seu uso generalizado e inadequado, causando a destruição das formas sensíveis, com persistência das resistentes, que iriam infectar outros indivíduos. Chama a atenção para o fato de que, num período relativamente curto (4 anos), grande percentagem da flora bacteriana do trato respiratório superior se tornou resistente à ação da penicilina.

A seguir, estuda a ação da estreptomina, diidro-estreptomina, aureomicina, cloranfenicol e terramicina ; acha que, destes últimos, o que apresenta maior vantagem é a terramicina, ao passo que o cloranfenicol é o que tem menor ação sôbre os cocos Gram-positivos.

Por último, insiste na necessidade de, hoje em dia, se determinar sempre a sensibilidade do germe aos antibióticos antes de usá-los, para evitar os inconvenientes acima apontados.

CARDEWELL (1946) refere-se ao efeito dramático da penicilina, usada localmente, quando o germe era sensível a êste antibiótico.

É um fato de verificação diária a ocorrência, cada dia mais frequente, do aparecimento de formas de infecções agudas ou crônicas das vias aéreas superiores, resistentes à penicilinoterapia. Quem presenciou o aparecimento da penicilina e os efeitos dramáticos desta droga sôbre processos inflamatórios das vias aéreas superiores em doses mínimas não pode deixar de ficar decepcionado e mesmo alarmado com as sombrias perspectivas futuras que oferece a terapêutica pelos antibióticos. Apesar de serem usadas, hoje, doses dez a trinta vezes maiores que no passado, os casos de fracasso terapêuticos se sucedem com frequência progressiva. Se prevalecer a opinião de DEMEREC (1951), dentro de mais alguns anos teremos que pôr de lado a penicilina

como droga arcaica e prosseguir com o uso de outros antibióticos que, por sua vez, serão, no futuro, também rejeitados e assim por diante, até que a ciência médica consiga o antibiótico ideal: aquêle que seja ativo para todos os germes e contra o qual não apareçam raças resistentes.

Em nosso meio, nenhum esforço havia ainda sido feito no sentido de apurar a nossa situação em relação a tão sério problema. O fim dêste trabalho é antes o de um inquérito preliminar sôbre quais possam ser os agentes patógenos das sinusites e qual o seu modo de agir em relação aos vários antibióticos. Esperamos que êste primeiro passo sirva de estímulo para uma pesquisa mais aprofundada neste terreno e que êstes resultados possam repercutir sôbre outros sectores da Medicina, deixando claro que o que sucede com as infecções otolaringológicas pode também reprocessar nos territórios de outras especialidades médicas.

Como se pode verificar pelos trabalhos acima citados, a situação evolui para pior, de ano para ano, o que obriga o meio médico a manter-se em permanente contacto com o problema, a fim de que tenha uma impressão exata da situação no momento atual.

Neste trabalho, não se tratou de comprovação clínica dos exames realizados no laboratório. Em primeiro lugar, porque a moléstia em estudo apresenta fatores de contrôle de cura muito variados e de difícil avaliação. Em segundo lugar, por não nos ser possível utilizar, nas doses e pelo tempo necessário, o antibiótico melhor indicado pelo teste, já que o custo da maioria dêles é quase proibitivo para a média do nosso povo. Todavia, pelos resultados obtidos, acreditamos ser possível tirar algumas conclusões valiosas que poderão nos orientar em sentido prático.

MÉTODO DE ESTUDO

1. Origem do material

1) O material para a confecção dêste trabalho foi obtido de três fontes : a) de pacientes portadores de formas crônicas de sinusite e submetidos a intervenção cirúrgica, pela técnica de Caldwell-Luc. b) de pacientes portadores de formas crônicas ou agudas de sinusite com exsudato abundante drenando no meato médio, de onde era aspirado em tubo estéril ou, nos casos de ausência ou escassês de exsudato, por punção diameática. c) de pacientes clinicamente normais (em 25 casos), no sentido de ser comprovada a flora normal das fossas nasais e seu comportamento com relação aos antibióticos.

2. Colheita do material

As técnicas usadas para colheita do material foram as seguintes :

1) nos doentes operados, o material era colhido da seguinte maneira : uma vez exposta a parede anterior do seio maxilar, com golpes leves de goiva, procurava-se fazer saltar a delgada lâmina óssea desta parede, permanecendo a mucosa subjacente íntegra. Através desta espécie de fontanela, penetrava-se com uma seringa montada com agulha calibrosa e contendo 5 cc de sôro fisiológico estéril que era injetado dentro da cavidade do antro maxilar e, a seguir, aspirado. Se, com esta manobra, se conseguia pouco ou nenhum exsudato, a manobra era repetida uma ou duas vezes, a fim de se dissolver o pus dentro da cavidade sinusal, facilitando a sua retirada. A seguir, êste material era colocado em tubo de ensaio estéril e enviado ao laboratório. Entre a hora da colheita e a hora da sementeira, o lapso decorrido era de 4 a 6 horas. O cirurgião que colhia o material apresentava-se sob condições totais de assepsia.

2) nos pacientes não operados, o material era colhido de duas maneiras : a) quando havia exsudato abundante no meato médio, o material era aspirado, com uma cânula, do seio frontal, por meio de uma bomba Gomco ligada a um tubo de borracha, para dentro de um vidro com tampa de borracha. A seguir, para que a maior parte do exsudato não permanecesse no interior da tubulação, era a cânula aspiradora imersa em um cálice contendo 10 cc de sôro fisiológico estéril, com o que se conseguia acarretar, para dentro do vidro, o exsudato que permanecera estacionado no interior da tubulação.

A tubulação de borracha, cânula e agulha eram esterilizadas por fervura, assim como o espéculo nasal usado. O vidro com tampa de borracha era, primeiramente, esterilizado por fervura e, a seguir, em estufa a 120 graus, por trinta minutos. O vestibulo nasal do paciente era esterilizado com uma solução de mertiolato a 1 por mil.

3) pacientes portadores de infecção sinusal e que não apresentavam exsudato nasal em quantidade apreciável eram puncionados, através do meato inferior, e, colocando-se a cabeça em hiperextensão e levemente inclinada para o lado puncionado, instilava-se, pelo trocarer, 5 cc de sôro fisiológico estéril que eram, a seguir, aspirados. Devemos acrescentar que encontramos grande dificuldade em retirar material por êste processo, sendo que, muitas vezes, a aspiração só era possível parcialmente e, em outros casos, o sôro injetado passava, imediatamente, para o faringe e não era possível aspirar cousa alguma. Acreditamos que esta técnica só era factível em cem por cento dos casos, se collocarmos os pacientes em posição de Tredelemburgo.

4) o grupo de pacientes tido como normal foi obtido de indivíduos que passavam por exames médicos de rotina e que, uma vez aptos, eram enviados ao serviço de ORL, para exame especializado. Esses pacientes eram interrogados quanto a sintomas sinusais presentes ou passados e examinados por rinoscopia anterior e transiluminação. Uma vez comprovada a normalidade, era o muco nasal retirado do meato médio, por alça longa de platina previamente flambada, e imediatamente semeado em meio de ágar-sangue e caldo glicosado e, dentro de uma hora, no máximo, colocado em estufa. O vestibulo nasal era desinfetado com mertiolato a um por mil e cuidados especiais eram tomados para que a alça não tocasse o vestibulo. Quando isso sucedia, a alça era novamente flambada e a manobra repetida.

Não caberá, aqui, crítica das técnicas mais usadas na colheita de material infectado dos sinus ou das fossas nasais, mas acreditamos que os processos por nós usados atendem, em boa parte, os cuidados essenciais de assepsia, de modo a permitir, no máximo possível, um material livre de contaminação.

3. Técnica da cultura

Técnica — Chegado o material ao laboratório, era imediatamente semeado em tubos de ágar-sangue, caldo glicosado e meio Brewer, ao qual se juntava sangue desfibrinado de coelho (0,5 ml para cada 10 cc do meio). Usando estes três meios, pensamos que qualquer germe por acaso presente certamente cresceria, fôsse aeróbio ou anaeróbio.

A inclusão do meio Brewer foi motivada pela possível presença de germes anaeróbios ou microaerófilos no exsudato das sinusites fechadas. O caldo glicosado e o ágar-sangue servem como meios de cultura universais apropriados para suportar o crescimento da maioria das bactérias.

A identificação de alguns cocos Gram-positivos foi baseada unicamente em provas morfológicas e ação sobre meios com sangue. A diferenciação do pneumococo foi baseada na fermentação da inulina e solubilidade em bile.

Bacilos Gram-negativos tipo *Haemophilus* foram identificados pelas suas necessidades de fator X e V. No caso de pertencerem ao grupo das Enterobacteriáceas, foram estudadas a morfologia, provas bioquímicas básicas, principalmente produção de urease. Não foi feita nenhuma identificação sorológica.

A identificação dos cocos Gram-negativos foi feita por provas bioquímicas.

As provas de coagulase dos estafilococos foram feitas segundo método de MESQUITA (1944). A hemólise foi verificada em placas de ágar-sangue a 5%.

4. Verificação da sensibilidade aos antibióticos.

Vários são os métodos propostos para verificação da sensibilidade de um microrganismo a um determinado antibiótico. Três são os principais: 1.º) consiste em colocar, numa placa de ágar na qual tenha sido semeado o germe, vários cilindros de vidro ou porcelana, cheios com várias concentrações do antibiótico para o qual se deseja verificar a sensibilidade do germe. Pelas áreas de inibição em tórno dos cilindros, podemos avaliar a sensibilidade do germe ao antibiótico; 2.º) consiste em fazer diluições seriadas do antibiótico num meio de cultura líquido e verificar em que tubo não há crescimento microbiano. Sabendo-se a concentração do antibiótico em cada tubo, será fácil avaliar a sensibilidade do germe; 3.º) consiste em impregnar placas de ágar com várias concentrações do antibiótico e aí semear a cultura em prova e verificar qual a concentração do antibiótico que inibe o crescimento bacteriano.

Modificações desses 3 processos já foram descritas, mas uma prova de sensibilidade feita por qualquer deles envolve um gasto de material muito grande e a necessidade de se ter, sempre, no laboratório, uma série de soluções dos vários antibióticos e de vidraria nem sempre ao alcance de qualquer laboratório.

VINCENT e VINCENT (1944) descreveram um processo de se testar a sensibilidade de um germe à penicilina usando discos de papel de filtro previamente impregnados pelo antibiótico. Segundo os referidos autores, esse processo substitui perfeitamente o método do cilindro e, num grande número de testes comparativos, demonstraram que, avaliando-se as zonas de inibição em tórno dos discos de papel, obtém-se resultados muito mais precisos do que pelo método do cilindro.

A técnica consiste em se fazer uma semeadura do germe a ser testado em uma placa de ágar e colocar, sobre a superfície do meio, vários discos de papel de filtro que foram imersos previamente em várias concentrações de penicilina. Zonas de inibição bem definidas são verificadas em tórno dos discos de papel de filtro. Comparando-se os diâmetros das zonas de inibição com uma curva standard de uma amostra conhecida obtida pelo processo do cilindro, torna-se possível determinar as concentrações de penicilina necessárias para inibir o crescimento de determinada bactéria.

BONDI e colab. (1947), SCOTT (1950) e MC LAURIN e colab. (1951), empregando o método de impregnação em papel de filtro, demonstraram que o processo pode ser usado para testar a sensibilidade de uma bactéria aos seguintes antibióticos: penicilina, aureomicina, terramicina, estreptomina e cloranfenicol.

Nos Estados Unidos da América do Norte, o laboratório Difco já expôs à venda um estojo contendo discos de papel impregnados de antibióticos.

A interpretação da prova varia conforme usamos o método dos autores acima citados ou aquêlé aconselhado pelo laboratório Difco. No primeiro caso, a medida das áreas de inibição em tórno dos discos é que indica a sensibilidade ou resistência da bactéria ao antibiótico, uma vez que o disco de papel contém uma quantidade fixa do antibiótico. No segundo caso, o antibiótico está em três concentrações diferentes, A, B e C. Se houver uma zona de inibição nos discos A, B e C, significará que a bactéria é sensível ao antibiótico. Se esta só aparecer em tórno dos discos B e C, a bactéria é pouco sensível ou de sensibilidade duvidosa. É resistente quando não ocorre inibição em tórno de nenhum dos discos, ou só em volta do disco C.

Iniciamos nossas investigações empregando discos obtidos do laboratório Difco. Como não foi possível obter suprimento regular, fomos obrigados a preparar discos adotando a técnica de BONDI e colab. (1947), SCOTT (1950) e MC LAURIN e colab. (1951). Comparando os resultados em germes previamente testados com material Difco, verificamos que estes se superpuzeram.

Resultados :

Como já foi dito, não pretendemos que todos os germes encontrados na secreção sinusal sejam os responsáveis pelo processo infeccioso. Aceitar uma bactéria como responsável pela afecção sinusal é problema que não é fácil de ser resolvido.

SPARREVOHN e BUCH (1946), estudando a bacteriologia das sinusites maxilares, apontam as dificuldades em se obter dados que possam ser comparados. Esses autores, revendo os resultados de vários outros, mostram a grande disparidade dos achados bacteriológicos. Dão grande importância ao achado de uma só bactéria, principalmente se se repetir em exames sucessivos.

GOLDMAN (1950), com o fim de verificar o papel que representam as fossas nasais, os seios e o nasofaringe como focos de infecção, chama a atenção para o problema da interpretação do significado do achado bacteriológico.

Afirma que, para fins diagnósticos, a presença nas fossas nasais de pneumococos, estreptococos hemolíticos, *Streptococcus viridans*, estreptococos não hemolíticos, *Staphylococcus aureus* A, bacilo de Friedländer e *Haemophilus influenzae* indicam, em geral, a presença de uma infecção.

Esses germes, no entanto, podem ser isolados do nasofaringe sem haver, aí, sinais físicos de infecção, parecendo ser este o foco das bactérias patogênicas que podem invadir as fossas nasais e os seios quando o sistema defensivo do organismo for deprimido.

Em apóio a êste ponto de vista, transcreve, em alguns quadros, quais os germes mais encontrados nas fossas nasais e no nasofaringe de indivíduos normais, baseando sua observação nos resultados obtidos em várias localidades dos Estados Unidos.

Analisando êsses quadros, nota-se a predominância de determinada flora nas fossas nasais e no rinofaringe, quase sempre idêntica, não havendo influência da zona onde foi feita a verificação nem da estação do ano.

O nosso material consta de amostras de exsudato obtidas de 45 doentes portadores de formas agudas ou crônicas de sinusites uni ou bilaterais (5 casos) que foram submetidos à intervenção pela técnica de Caldwell-Lue (26 casos), puncionados (5 casos), ou o material obtido por aspiração (19 casos), segundo as técnicas já descritas.

No quadro 1, estão relacionados todos os germes por nós isolados de doentes portadores de afecção sinusal e os encontrados nas fossas nasais de indivíduos normais.

QUADRO 1

Doentes (61 germes) 45 doentes		%	Normais (32 germes) 25 indivíd.	%
Estafilococo hemolítico	16	26,6	14	43,7
Estafilococo inerte	8	13,3	5	15,6
Hemófilo	12	20,0	2	6,2
Pneumococo	9	15,0	1	3,1
<i>Streptococcus viridans</i>	7	11,6	—	0
Difteróides	3	5,0	3	9,4
Coliformes	2	3,3	1	3,1
Tetragens	1	1,6	—	0
<i>Neisseria flava</i>	1	1,6	—	0
<i>Neisseria sicca</i>	—	0	2	6,2
<i>Neisseria catarrhalis</i>	—	0	2	6,2
Proteus	—	0	1	3,1
Estreptococo hemolítico	1	1,6	—	0
<i>Klebsiella</i>	1	1,6	1	3,1
Culturas puras	31		20	
Culturas com 2 germes	9		2	
Culturas com 3 germes	4		3	
Culturas estéreis	4		0	

Se compararmos os achados dos indivíduos portadores de infecções sinusais e dos indivíduos normais, encontraremos uma diferença muito nítida da flora bacteriana de uns e de outros.

Bactérias do grupo hemófilo, pneumococos e estreptococos *viridans* apareceram com muito maior frequência nos indivíduos doentes do que nos normais, o que está de acôrdo com o que foi verificado por GOLDMAN (1950).

Quanto às outras bactérias, com exceção dos estafilococos, o número é muito pequeno para se poder fazer comparações; no entretanto, o achado de uma bactéria cujo "habitat" normal é o tubo intestinal provavelmente deverá ter uma significação clínica.

Já no caso dos estafilococos, o problema se apresenta de modo diferente, porquanto existem provas feitas "in vitro" relativamente simples para estabelecer se a amostra é ou não virulenta.

Das inúmeras provas descritas, duas são as principais: a prova da hemólise e a da plasmocoagulação, uma vez que as outras, fermentação da manita, coagulação do leite, etc., dão resultados irregulares.

BIER (1932), estudando a prova da hemólise na diferenciação dos estafilococos patogênicos, verificou que, de 30 raças isoladas de focos patogênicos, 26 foram hemolíticas e que, de 33 amostras isoladas da pele (saprofitas), apenas 2 produziram hemólise.

MESQUITA (1944), estudando 167 amostras de estafilococos, verificou que 109 eram plasmocoagulantes, todos êles isolados de focos patológicos comprovados ou do nariz e garganta do pessoal de um hospital em que houve uma epidemia de piodermite. Das 58 amostras não plasmocoagulantes, 57 foram isoladas em condições saprófitas e uma só foi isolada de um foco patológico.

Na verificação de patogenicidade dos estafilococos que isolamos de doentes com afecções sinusais, não nos foi possível realizar a prova de plasmocoagulação em tôdas as amostras; entretanto, a verificação da capacidade hemolítica foi sempre realizada.

Considerando a prova de hemólise como índice de patogenicidade, verificamos que 56,6% dos estafilococos isolados têm essa característica.

Se a êsse número juntarmos duas amostras inertes, mas plasmocoagulantes, teremos 65,2% como possíveis patogênicas.

Usando critério idêntico para estafilococos isolados da fossa nasal de indivíduos normais, encontramos 14 amostras hemolíticas (73,7%) e 5 não hemolíticas (26,3%).

Das 14 amostras hemolíticas, 6 também foram plasmocoagulantes, havendo, portanto, uma concordância de 35,7% entre as duas provas, de onde se conclui, no que diz respeito às fossas nasais e seios, que a presença de um estafilococo hemolítico não indica que haja um processo infeccioso em causa, mostrando, mais uma vez, da dificuldade em concluir se uma determinada bactéria é ou não responsável pela afecção sinusal.

No quadro 2, estão agrupados os resultados das provas de sensibilidade aos vários antibióticos.

QUADRO 2

	Penicilina			Cloranfenicol			Estreptomina			Aureomicina			Terramicina		
	S.	P. S.	R.	S.	P. S.	R.	S.	P. S.	R.	S.	P. S.	R.	S.	P. S.	R.
Estafilococo — n.º testado 24 amostras	14	2	8	18	3	3	6	1	4	3	9	1	4	0	0
<i>Streptococcus viridans</i> — n.º testado 7 amostras	7	0	0	4	1	2	1	0	1	4	0	1	1	0	0
Hemófilo — n.º testado 12 amostras	0	0	12	0	1	11	0	1	2	0	0	8	0	1	2
Pneumococo — n.º testado 9 amostras	9	0	0	8	0	1	1	1	2	4	1	0	—	—	—
Coliforme — 2 amostras	0	0	2	0	1	1	0	1	1	0	1	0	—	—	—
<i>Neisseria flava</i> — 1 amostra	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
Diplococo Gram-negat. — 1 amostra	0	1	0	1	0	0	—	—	—	—	1	0	—	—	—
Tetragena — 1 amostra	0	0	1	1	0	0	—	—	—	0	1	0	—	—	—
Difteróides — 2 amostras	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	—	—	—
Estreptococo hemolítico — 1 amostra	1	0	0	1	0	0	0	0	1	—	—	—	—	—	—
<i>Klebsiella</i> — 1 amostra	0	0	1	0	0	1	—	—	—	0	0	1	—	—	—

Legenda: S., sensível; P.S., pouco sensível; R., resistente.

Por motivos que já foram explicados, não nos foi possível testar todos os germes com os cinco antibióticos mais comumente usados entre nós: penicilina, cloranfenicol, estreptomina, aureomicina e terramicina; com exceção dos dois primeiros, que foram usados em tôdas as provas.

Se considerarmos como possíveis patogênicos somente algumas espécies bacterianas que foram isoladas, seguindo, para isso, o critério adotado por GOLDMAN (1950), verificaremos:

Streptococcus viridans (7 amostras) — O antibiótico que deu melhor resultado foi a penicilina, não havendo nenhuma amostra resistente. Com a aureomicina, encontramos 20% de amostras resistentes, estreptomina 50% e cloranfenicol 28,5%, sendo 14,2% pouco sensíveis.

Hemófilos (12 amostras) — Penicilina e aureomicina não agiram. Uma amostra mostrou-se pouco sensível ao cloranfenicol e à estreptomina. Germe quase totalmente resistente aos antibióticos.

Pneumococo (9 amostras) — Tôdas as amostras foram sensíveis à penicilina. Com o cloranfenicol, 1 mostrou-se resistente. Aureomicina: 4 sensíveis e 1 pouco sensível. Estreptomina: 2 resistentes e 1 pouco sensível.

Estafilococos (24 amostras) — Por ter sido o germe mais freqüentemente encontrado e por ser sensível avaliar a sua virulência por provas de laboratório, analisaremos êste grupo com mais detalhes.

O quadro 6 representa a percentagem baseada em virulência e a virulência da amostra estudada.

QUADRO 3

	Penicilina			Cloranfenicol			Estreptomicona			Aureomicina		
	S.	P.S.	R.	S.	P.S.	R.	S.	P.S.	R.	S.	P.S.	R.
Virulentas (14 am.)	66,6	13,3	20	73,3	13,3	13,3	50,0	16,6	33,3	66,6	22,2	11,1
Avirulentas (10 am.)	50	0	50	87,5	0	12,5	75,0	0	25,0	0	100,0	0

Neste grupo, o antibiótico que se mostrou mais eficiente foi o cloranfenicol; penicilina e aureomicina tiveram a mesma ação, havendo um número menor de amostras resistentes à aureomicina, mas sendo a maioria pouco sensível. A estreptomicona foi a que se mostrou menos eficiente. É interessante verificar que, no grupo das amostras avirulentas, 50% delas foram resistentes à penicilina.

No grupo de indivíduos normais, só o estafilococo foi isolado em número que comporta tirar alguma conclusão. Foram isoladas 19 amostras, sendo 14 virulentas e 5 avirulentas.

QUADRO 4

	Penicilina			Cloranfenicol			Aureomicina		
	S.	P.S.	R.	S.	P.S.	R.	S.	P.S.	R.
Virulentas (14 am.)	71,4	21,4	7,1	100	0	0	78,5	21,4	0
Avirulentas (5 am.)	60,0	20,0	20,0	80,0	0	20,0	40,0	40,0	20,0

Neste grupo, o estafilococo apresentou resistência menor à penicilina do que os do grupo anterior. Aqui também as amostras avirulentas foram mais resistentes à penicilina do que as virulentas.

Quanto aos outros germes encontrados, a sua frequência foi tão baixa que dificulta qualquer conclusão.

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Como já foi explicado neste trabalho, não foi feito qualquer esforço no sentido de se obter comprovação clínica dos resultados dos testes realizados, representando mais um inquérito preliminar sobre o assunto. Todavia, para orientação de futuras investigações no campo da clínica e da terapêutica, é de conveniência discutir estes resultados e procurar uma orientação que permita tirar, sob o ponto de vista prático, conclusões úteis.

Se analisarmos a totalidade dos casos clínicos e os diversos resultados dos testes, vamos verificar que, dos 40 pacientes com culturas positivas, apenas 19 se mostraram sensíveis à penicilina; os restantes, em número de 21, ou mostraram resistência total, no caso de cultura pura, ou, nos casos de culturas mixtas, apresentaram um ou dois germes sensíveis e o outro resistente ou todos resistentes. Isto viria encarecer a necessidade absoluta de ser determinado o agente etiopatogênico em todos os casos de processos inflamatórios sinusais, já que menos da metade, segundo os nossos resultados, se mostrou sensível à penicilina. Na questão das culturas mixtas em que um germe é sensível à penicilina e outro resistente, devemos levar em conta que o antibiótico pode atingir apenas o germe sensível sem que, por isso, o processo inflamatório seja curado. De outra parte, se um dos germes resistentes for um estafilococo, haverá, no foco inflamatório, eventual produção de penicilinase que irá inativar a penicilina, não permitindo a sua ação sobre o outro germe sensível. Assim, nos casos de flora mixta com germes resistentes e sensíveis, há necessidade de se verificar qual deles é o responsável pelo processo inflamatório, se um único ou todos, e agir de acordo com o que determinarem os testes.

A verificação do quadro 1 nos dá, de início, um elemento muito interessante que é o da predominância do estafilococo como o possível agente etiológico nas sinusites.

Analisando o quadro 3, onde estão inscritas as amostras de estafilococos de origem sinusal com prova de virulência positiva, 20% delas são resistentes e 13,3% pouco sensíveis à penicilina, justamente num grupo de cocos Gram-positivos que deveria ser altamente sensível à droga. Prevendo o aumento da resistência deste germe à penicilina de ano para ano, pode-se

supor que, dentro de breve prazo, êste antibiótico seja quase totalmente ineficaz para o estafilococo. Se admitirmos que os outros germes Gram-positivos (estreptococo, pneumococo) continuem sensíveis à penicilina, como pode ser verificado no quadro 2, teremos, dentro de poucos anos, cêrca de 70% de germes resistentes como responsáveis pelos processos sinusais. Daí se pode inferir que a terapêutica antibiótica pela penicilina terá, em futuro não muito remoto, indicações restritas e precisas, no campo das sinusites. A questão da dosagem da penicilina é outro ponto em que, ao que se observa, a orientação não é das mais seguras. Com o aparecimento cada vez maior de formas de sinusites resistentes clinicamente à penicilina, a tendência tem sido de aumentar empiricamente a dosagem da droga sem maiores verificações.

SPINK (1951), estudando a sensibilidade da penicilina em 104 raças de estafilococos, verificou que 44,2% eram sensíveis a meia unidade de penicilina por ml, 43,2% eram resistentes, sendo que, destes, os menos resistentes só eram inibidos no meio de cultura por uma concentração de 62,5 unidades de penicilina por ml, ou seja 125 vezes maior que para os sensíveis. Apenas 12,6% eram pouco sensíveis. Êste fato se verifica também nos nossos casos, em relação ao estafilococo : em 24 amostras (14 sensíveis, 8 resistentes e 2 apenas pouco sensíveis). Se transportássemos isso para o campo da terapêutica, veríamos que enormes doses do antibiótico deveriam ser empregadas para ser tratada uma forma resistente, o que não seria prático e, muitas vezes, inexequível.

O mesmo autor faz notar, de outra parte, que as formas de resistência intermediária são em pequena percentagem, isto é, êste germe, em relação à penicilina, ou se mostra muito sensível, ou extremamente resistente. De outro lado, o aumento indiscriminado da dosagem pode levar a concentração sangüínea a um nível tal que, paradoxalmente, se verifique uma diminuição no valor terapêutico da penicilina.

EAGLE e MUSSELMANN (1948) verificaram, em raças de estreptococos hemolíticos, estafilococos, pneumococos e treponema, que o máximo efeito bactericida e bacteriostático da penicilina se deva em uma concentração definida e que o aumento dessa concentração, mesmo até 32.000 vezes, em metade dos casos não aumentava êsse poder germicida e que, na outra metade, êsse poder era deprimido. Existia, pois, uma zona ótima de concentração do antibiótico. Êste efeito depressor das altas concentrações de penicilina foi particularmente notado nos estreptococos hemolíticos.

Estudando a sensibilidade das outras espécies bacterianas à penicilina, vamos verificar que os outros cocos Gram-positivos (estreptococo e pneumococo) foram uniformemente sensíveis ao antibiótico, o que, aliás, confirma os resultados de outros autores. Seriam germes que não desenvolve-

riam formas resistentes e, como tais, fadados ao desaparecimento pelo uso disseminado da penicilina. É de interesse guardar este fato em mente, para se verificar, futuramente, se a incidência destes germes não cairá progressivamente, cedendo passo aos germes resistentes. Em relação ao hemófilo, vemos que incidiu em 20% das culturas e que se mostrou uniformemente resistente a todos os antibióticos (apenas um caso pouco sensível à estreptomomicina e outro ao cloranfenicol). Em três casos, apareceu em cultura pura. O caso 5 refere-se a uma paciente de 32 anos, que apresentou um quadro agudo de sinusite maxilar extremamente doloroso e com reações gerais (febre, náuseas, mau estado geral) e que, por isso, foi hospitalizada. Imediatamente submetida à penicilino-terapia (400.000 U procaínas, nas 24 horas) sem nenhuma resposta satisfatória; dentro de 48 horas, a dose foi aumentada para o dobro, associando-se a diidro estreptomomicina 1/2 g, de 12 em 12 horas. Decorridas mais 72 horas, como o quadro geral não se amainasse, passou a paciente a fazer o tratamento clássico de calor (infra-vermelho e ondas curtas) com o que cederam, em parte, os sintomas agudos. Foi, então, realizada uma punção e o material enviado a exame bacteriológico revelou a presença de hemófilo. Esta paciente obteve alta, mas, até a data atual, foi acometida, por duas vezes, de surtos agudos e aguarda oportunidade para ser operada. Este caso revela bem o valor do exame bacteriológico e do teste de sensibilidade para antibiótico na orientação da terapêutica das sinusites.

A incidência relativamente alta do hemófilo nas culturas do exsudato sinusal nos leva a pensar que pelo menos uma quinta parte dos processos sinusais tenha este germe como responsável e que, nestes casos, os antibióticos serão de nenhum efeito, devendo-se recorrer à terapêutica clássica.

Passando-se a analisar os resultados obtidos com a estreptomomicina, que foi feita em 22 germes, verificamos que sua ação se mostrou bastante irregular em relação aos germes mais freqüentes. Em virtude do pequeno número de casos, talvez seja esta a única conclusão a que se possa chegar. Em relação ao *Streptococcus viridans* e pneumococo, verifica-se que a penicilina será um antibiótico muito mais fiel que a estreptomomicina. Frente aos antibióticos, podemos concluir, pelas nossas experiências, que a estreptomomicina deverá ter, no tratamento das sinusites, apenas indicações de exceção.

O cloranfenicol foi o antibiótico que maior número de vezes se mostrou ativo "in vitro", para os germes isolados. O estafilococo foi 3 vezes resistente e 3 vezes pouco sensível, em 24 raças isoladas.

Com os outros cocos Gram-positivos, já não notamos a mesma uniformidade de ação verificada com a penicilina: em 7 *Streptococcus viridans*, 1 resistente e 1 pouco sensível e, em 9 pneumococos, 1 resistente. De um modo geral, pode-se dizer que, entre nós, o cloranfenicol é, no momento, o melhor antibiótico que poderia ser usado sem maiores verificações da flora

e sua sensibilidade a antibióticos nos casos de infecções das cavidades paranasais, de acôrdo com a experiência em curso, dependendo de comprovação clínica.

A aureomicina que foi ensaiada em 33 germes demonstrou resultados bastante inesperados, sobretudo em relação aos estafilococos, onde as formas pouco sensíveis e resistentes incidiam 10 vêzes sôbre 14 raças testadas. O contrário verificou SPINK (1951), que, entre 104 culturas de estafilococos, encontrou apenas uma altamente resistente à aureomicina. Todavia temos a impressão de que um maior número de casos deva ser investigado para se ter uma idéia mais nítida a respeito dêste antibiótico.

A terramicina só nos foi possível ensaiá-la em 13 culturas e demonstrou, em todos os casos, uma atividade integral, com exceção de 4 culturas de hemófilo.

RESUMO

Os autores, após tecerem considerações gerais sôbre a bacteriologia das fossas nasais e seios paranasais em indivíduos portadores de infecções e normais, chamam a atenção para um fato de verificação clínica diária, qual seja a ocorrência progressivamente mais freqüente de formas agudas ou crônicas de infecções do trato aéreo superior resistentes à penicilina e também a outros antibióticos.

Foi feito um estudo da flora microbiana do exsudato sinusal de 45 pacientes portadores de infecção e de 25 indivíduos clinicamente normais. Isolado o germe em causa, era o mesmo testado para os seguintes antibióticos: penicilina, estreptomina, aureomicina, cloranfenicol e terramicina, no sentido de ser pesquisada a sua sensibilidade em relação a êstes antibióticos. Foi sempre empregada a técnica dos discos impregnados pelo antibiótico. A comprovação clínica dos testes realizados no laboratório não foi feita pelos autores.

O material foi obtido de três maneiras diferentes: por trepanação da parede anterior do seio maxilar no ato cirúrgico; por punção diameática e por aspiração do exsudato diretamente do meato médio. Nos indivíduos normais, foi feita a sementeira direta do muco nasal retirado por alça de platina.

O estudo comparativo da flora dos pacientes com infecção e dos normais revelou uma diferença nítida entre uma e outra. Nos primeiros, predominavam os estafilococos, grupo hemófilo, pneumococos e *Streptococcus viridans*, enquanto nos outros havia preponderância de estafilococos e difteroides, estando os outros germes ausentes.

Testes de sensibilidade em todos os germens foram feitos apenas com a penicilina e o cloranfenicol, sendo que, com os outros antibióticos, apenas parte dos germes foram testados.

O cloranfenicol foi o antibiótico que maior número de vezes se mostrou ativo contra os cocos Gram-positivos. A penicilina, que se revelou uniformemente ativa nos estreptococos e pneumococos, revelou-se ineficaz "in vitro" em grande percentagem dos estafilococos.

SUMMARY

The authors, after general considerations regarding the bacteriology of the nose and paranasal sinuses in normal and infected patients, emphasize a fact of common verification, which is the progressively frequent occurrence of resistance in acute and chronic infections of the upper respiratory tract to penicillin and other antibiotics.

A culture was made of the sinus exudate of 45 patients with sinusitis and the nasal mucus of 25 clinically normal patients.

The organism found was isolated, identified and submitted to tests of sensitivity to the following antibiotics: penicillin, streptomycin, chloramphenicol, aureomycin and terramycin. Tests were performed by the disk method.

The sinus exudate was obtained in three different ways: 1. from the sinus cavity by trepanation of the anterior wall (Caldwell-Luc); 2. by the puncture of the inferior meatus; 3. by aspiration of the middle meatus. In the normal patients, the mucus was removed from the middle meatus with a platinum wire and planted directly into the medium.

A comparative study between the organisms found in the infected and in the normal patients shows a sharp difference in both floras. In the former there was a predominance of *Staphylococcus*, *Haemophilus*, *Pneumococcus* and *Streptococcus viridans*; in the latter, *Staphylococcus* and difteroides appeared most frequently, with absence of the other organisms.

The sensitivity tests were performed on all the organisms with penicillin and chloramphenicol. With the other antibiotics tests were made in part of the material.

Chloramphenicol presented the greatest activity against the Gram-positive cocci. Penicillin was uniformly active against *Streptococcus* and *Pneumococcus*, but unefective in a great percentage of the staphylococci.

BIBLIOGRAFIA

- ABRAHAM, E. P. e E. CHAIN — 1940 — An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature* 146: 837.
- BARBER, M. e M. ROZWADOWSKA-DOZWZENKO — 1948 — Infection by penicillin-resistant staphylococci. *Lancet* 2: 641-644.
- BIER, O. — 1932 — Sôbre a diferenciação entre os estafilococos piogênicos e os estafilococos da pele. *Rev. Assoc. Paul. Med.* 1: 415-423.
- BONDI JR., A., E. H. SPAUDING e C. C. DIETZ — 1947 — A routine method for the rapid determination of susceptibility to penicillin and other antibiotics. *Am. J. Med. Sci.* 213: 221-225.
- CARDWEEL, E. P. — 1946 — Penicillin administered locally in treatment of disease of nasal accessory sinus: evaluation of bacterial sensitivity. *Arch. Otoraryngology* 44: 287-297.
- DAVISON, F. W. — 1950 — Antibiotics and sinus infection. *Laryngoscope* 60: 131-141.
- DAVISON, F. W. — 1951 — The use of antibiotics in otolaryngology. *Ann. Otol. Rhin. Laryng.* 60: 207-220.
- DEMEREZ, M. — 1951 — Production of staphylococcus strains resistant to various concentrations of penicillin. Citado por W. W. Spink, *In J.A.M.A.* 37: 278-293.
- EAGLE, H. e A. D. MUZELMANN — 1948 — The rate of bactericidal action of penicillin in vitro as a function of its concentration and its paradoxically reduced activity at high concentration against certain organisms. *J. Exp. Med.* 88: 99-131.
- EDITORIAL — 1951 — Penicillin-resistant staphylococci. *J.A.M.A.* 145: 1268-1269.
- FLEMING, A. — A penicilina e suas aplicações práticas. São Paulo, Ypê, 1947.
- GOLDMAN, J. L. — 1950 — Bacteriology and clinical interpretation of the flora of the nose and naso pharynx in adults. *Ann. Otol. Rhin. Laryng.* 59: 156-165.
- MC LAURIN, A. W., D. M. TUTTLE e P. R. BEARNER — 1951 — Sensitivity of bacteria to chloramphenicol in vitro. *Am. J. Clin. Path.* 21: 189-191.
- MESQUITA, E. P. de — 1944 — Estafilococcias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 4: 1-181.
- MORLEY, D. C. — 1945 — A simple method of testing the sensitivity of wound bacteria to penicillin and sulphathiazole by the use of impregnated blotting paper discs. *J. Path. Bact.* 57: 379-382.
- SCOTT, E. G. — 1950 — Aureomycin sensitivity tested by Bondi disc technic. *Am. J. Clin. Path.* 20: 65-77.
- SPINK, W. W. — 1951 — Clinical and biological significance of penicillin resistant staphylococci including observations with streptomycin, aureomycin, chloramphenicol and terramycin. *J. Lab. Clin. Med.* 37: 278-293.
- SPINK, W. W., W. H. HALL e V. FERRIS — 1945 — Clinical significance of staphylococci with natural or acquire resistance to the sulfamides and to penicillin. *J.A.M.A.* 128: 555-559.
- SPARREVOHN, U. R. e A. BUCH — 1946 — The bacteriology of maxillary sinusitis. *Acta Oto-Laryngologica* 33: 425-436.

TÖRNE, F. — Citado por F. Hansel. Allergy of the nose and paranasal sinuses. St. Louis, C. V. Mosley Co, 1936.

VINCENT, J. G. e H. W. VINCENT — 1944 — Filter paper disc modification of the Oxford cup penicillin determination. *Proc. Soc. Esp. Biol. Med.* 55: 162-164.

WILSON e MILLES — Topley and Wilson's principles of bacteriology and immunity. Baltimore, Williams & Wilkins, 1946.



INCIDÊNCIA DE *GIARDIA SP.* EM FEZES DE ANIMAIS DOMÉSTICOS

Nota prévia

por

JOSÉ DA SILVA COSTA

Do Instituto Adolfo Lutz

A giardiose ou lamblíase é protozoose muito freqüente na espécie humana, incidindo, principalmente, em crianças na idade escolar, manifestando-se, geralmente, por distúrbios intestinais. Seu diagnóstico é facilmente feito pelo exame parasitológico das fezes, empregando-se o método direto e o de enriquecimento de Faust.

Procurando verificar a incidência da giardiose nos animais domésticos, fizemos exames de fezes adotando, como rotina, a seguinte técnica: numa lâmina comum, colocar 1 a 2 gotas de lugol forte, emulsionar, por meio de um bastão de vidro ou palito, uma pequena porção de fezes, cobrindo a preparação com lamínula, e examinar ao microscópio com aumento médio (320 a 400X). Deve-se ter o cuidado de homogenizar, previamente, as fezes e fazer preparação bem delgada. Por este exame direto, podem ser encontrados os cistos de *Giardia* com sua morfologia característica e as formas vegetativas sem movimento. Quando se quiser observar o movimento das formas vegetativas, faz-se o esfregaço em solução fisiológica usando fezes recentes.

Assim sendo, praticamos exames de fezes em animais apresentando distúrbios intestinais e em fezes de animais aparentemente sãos, para verificar a possível existência de portadores.

Em 55 animais, sendo 40 cães, 1 gato, 8 vacas, 6 cabras, encontramos *Giardia sp.* em 5 animais assim distribuídos: cães 2; gato 1; vaca 1; cabra 1. Em todos estes exames positivos foram apenas encontrados cistos de *Giardia sp.* As formas vegetativas foram encontradas no raspado da mucosa do jejuno-íleo de um dos cães necropsiados.

Compulsando a literatura nacional que nos foi possível, não encontramos referência sobre a incidência de *Giardia sp.* nesses animais.

Estamos procurando verificar se as giárdias encontradas são próprias dessas espécies animais ou se são idênticas à *Giardia lamblia* encontrada no homem. Por outro lado, é nosso intento pesquisar também este protozoário em outros animais domésticos.

Agradecemos a colaboração do Prof. Dr. Zeferino Vaz, dos Drs. Hassib Ashcar, Décio Melo Malheiro, Antônio Guimarães Ferri, José Marques dos Reis e da Srta. Nelly B. de Macedo, na execução do presente trabalho.

Trabalho apresentado à VII Reunião Anual de Medicina Veterinária, no Instituto Biológico de São Paulo, em 16 de dezembro de 1951 e entregue para publicação em 28 de julho de 1952.



TERRENO ENDOCRINOPÁTICO E INFECCÃO. (CONSIDERAÇÕES CLÍNICO-EXPERIMENTAIS)

por

J. A. DE MESQUITA SAMPAIO

Chefe do Ambulatório de Endocrinologia do Hospital Central da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo e Assistente da 3.ª Clínica Médica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

e

ECÇA PIRES DE MESQUITA

Médico do Instituto Adolfo Lutz e Chefe do Laboratório do Ambulatório de Endocrinologia do Hospital Central da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo

GENERALIDADES — Na abertura do XXII Congresso de Medicina, reunido em Paris, em outubro de 1932, BEZANÇON (1932) proclamou: “ce fut Pere de l'étiologie et de l'étiologie spécifique”. E acrescentou: “au lieu de penser maladie spécifique, nous pensons modalités réactionnelles spécifiques.”

O terreno sobre o qual as infecções evoluem representa grande contingente no que respeita a forma clínica da exteriorização da moléstia.

A ampliação das investigações sobre os processos de defesa correlacionados com as funções endócrinas possibilitarão conhecimento mais perfeito dos fenômenos naturais de resistência e de imunidade.

MARAÑÓN (1934), ao se referir aos “fatores predisponentes de la infección focal”, nos mostra as seguintes cifras da Secção de Reumatismo de seu Instituto:

Constituição.	}	Normal	9%	} 67%
		Infantil hipoplásica	8%	
		Astênica	59%	
		Pícnica	18%	
		Displásica.	6%	

E conclui: “el total de los reumatismos focales en las constituciones hipo-evolutivas (infantil y astenica) ligada a una vulnerabilidade especial

Trabalho apresentado ao Serviço de Fisiologia do Prof. Aloysio de Paula, da Policlínica Geral do Rio de Janeiro, em 13 de maio de 1950 e entregue para publicação em 27 de agosto de 1952.

del tecido mesenquimal, es, pues, de 67 por 100 (59+8), demostrandose entre esta constitución y el reumatismo focal la misma relación que vimos, casi con iguales cifras, para el reumatismo cardiarticular”.

BERARDINELLI (1936) chama a atenção para : “as doenças independentes de qualquer agente infeccioso cósmico ou traumático, as chamadas doenças constitucionais, que buscam a sua origem em profundas e, às vezes, longínquas perturbações evolutivas”.

Vejam, agora, um caso concreto, de observação própria, para exemplificar.

E. K. — diagnóstico clínico : insuficiência suprarrenal ; algias ; amigdalite. Prova de Viggo-Schmidt modificada por MESQUITA SAMPAIO e catáb. (1945) positiva tardia ; fig. 1. Exame histopatológico da amígdala : extensas lesões do epitélio, inúmeras vezes com infiltração perivascular e lesões inflamatórias do parênquima ; presença de microabcesso justaeptelial ; fig. 2.

Nesse paciente, o quadro era representado por : intensa reação da amígdala com occipitalgia matutina, mialgias laterocervicais, adenopatia retromaxilar dolorosa, nevralgias torácicas e dos membros, profunda astenia com baixa pressão arterial, aquém de 9 a máxima e mínima 6 ; surtos febris freqüentes com a manutenção de temperatura sub-febril ; potassemia aumentada com hipossodemia, além do quadro de anoxia peculiar à insuficiência suprarrenal ; fig. 3.

Seguramente, o comprometimento da capacidade funcional das suprarrenais, patenteado pela sintomatologia e pouca defesa do paciente aos freqüentes surtos infecciosos, respondia por um teste tão pouco expressivo — prova de Viggo-Schmidt apenas positiva tardia ; fig. 1. Procedida à amigdalectomia e completada a cura com a polivitaminoterapia, hormonioterapia cortical, regime hipercloretado e hiperprotéico, a evolução desse caso, contudo protraída, foi integralmente favorável.

Consideremos, agora, o caso da estafilocócia em relação ao terreno.

BARNES (1939) realçou a freqüência com que as formas de furunculose aparecem nos jovens de 17 a 25 anos, com metabolismo basal baixo. Estudou mesmo uma epidemia de furunculose observada num colégio em que os pacientes apresentavam hipometabolismo. As medidas que permitiram a elevação do metabolismo foram de grande proveito no combate daquele surto epidêmico.

MARAÑÓN (1938) também salienta a maior facilidade com que os hipotireóides estão sujeitos às piodermites, bem como os bons resultados que a tiroxina representa como elemento da cura desses pacientes. Inúmeros são os casos e inúmeros são os observadores que têm procurado mostrar a importância do “terreno endócrino-constitucional” relativamente à infecção estafilocócica.

Em relação à tuberculose, cuja significação médico-cirúrgica e higienossocial prescinde de encarecimento, virá, muito a propósito, um estudo de J. MOREIRA DA FONSECA (1935).

Com efeito, por essa época, êsse provecto mestre da Medicina brasileira, baseado em extensa bibliografia, apresenta um trabalho sôbre a influência da tuberculose nas afecções endócrinas em geral, tirando, entre outras, as seguintes conclusões :

a) As glândulas de secreção interna exercem um preponderante papel na defesa do organismo contra os malefícios do bacilo de Koch.

b) As glândulas de secreção interna sofrem, comumente, êsses malefícios causados pelo bacilo de Koch.

c) A tuberculose das glândulas de secreção interna pode ser: específica ou folicular e inespecífica ou inflamatória, a evidenciar a importância que se deveria dar a êsse sector da Fisiopatologia humana.

Quanto ao tipo constitucional e infecção tuberculosa, PENDE (1932) adverte : "perché la prima aggressione resta debellata e imprigionata in alcuni individui per tutto il resto della vita, in altri a um certo momento riprende vigore, assumendo decorso, forma anatomica, localizzazione diversa."

Assim, distingue êsse referido autor cinco variedades principais de hábitos longilíneos, segundo o seu comportamento "vis-à-vis" da tuberculose.

1.^a — Variedade longilínea hipertireóidea pura ou harmônica e hipertireóidea hipoparatiroidica (espasmofilia).

2.^a — Variedade longilínea eunucóide.

3.^a — Variedade longilínea hiperpituitária ou hiperpituitária-hipogenital.

4.^a — Variedade longilínea hipertímica-hipogenital.

5.^a — Variedade longilínea hipossuprarrenalica.

Consoante afirma Pende, a resistência à tuberculose dessas cinco variedades de tipo longilíneo se apresenta em ordem decrescente, de acôrdo com sua enumeração.

Essas considerações são aplicáveis aos vários tipos de infecção, mas, no presente trabalho, focalizaremos a infecção estafilocócica, inspirados em nossas experiências.

Com referência ao terreno, ressaltaremos a importância que as suprarrenais desempenham como fator de defesa e, como tal, impõe-se uma vista sucinta sôbre "Le syndrome général d'adaptation" de SELYE (1946).

Pôsto isso, como esquema dêsse estudo, os seguintes itens devem ser abordados :

- a — Infecção estafilocócica.
Diagnóstico de laboratório das estafilocócias.
Classificação dos estafilococos.
- b — Síndrome geral de adaptação de Selye.
- c — Profilaxia das infecções.
- d — Terapêutica das infecções à luz da Endocrinologia.

A — INFECCÃO ESTAFILOCÓCICA.

Na infecção estafilocócica, que, às vêzes, atinge, na coletividade, aspectos de verdadeiras epidemias, é preciso que se leve em conta o agente causal e o terreno em que se desenvolveu a infecção.

Quanto ao terreno, inúmeros são os exemplos da influência que representa o grau diverso de resistência do organismo a todo tipo de infecção, bastando a citação de alguns exemplos para que se tenha idéia do fato.

Quanto ao agente etiológico, no caso o estafilococo, seria necessário um estudo da sua biologia a-fim-de se estabelecer qual o método mais rápido, prático, simples e sensível de se avaliar o poder patogênico.

DIAGNÓSTICO DE LABORATÓRIO. CLASSIFICAÇÃO DOS ESTAFILOCOCOS.

O estafilococo é um germe Gram-positivo que, quando cultivado, em meio sólido especialmente, se apresenta disposto em forma de cachos semelhantes aos cachos de uva. Representa a causa de um sem número de moléstias, entre as quais sobressaem: as estafilocócias cutâneas, sob suas variadas formas (foliculites, estafilodermites, piodermites, dermatites); certos casos de escarlatina, segundo STEVENS (1927) e STAKE (1927), entre outros autores; a osteomielite; as artrites supurativas; as pneumonias estafilocócicas; as afecções cardiovasculares; as estafilocócias renais e perirrenais; as meningites estafilocócicas; os abscessos cerebrais; as septicemias.

O diagnóstico de laboratório das estafilocócias se prende a dois fatores:

- 1 — isolamento do germe e identificação.
- 2 — pesquisa da patogenicidade da raça isolada.

A primeira parte é feita segundo a técnica bacteriológica rotineira. Entretanto, a pesquisa da ação patogênica de uma determinada raça tem dado lugar a um grande número de trabalhos. Os mais modernos são unísonos em relegar para plano inferior o caráter de pigmentação dourada, de tanta importância anterior. Das numerosas provas de pesquisa de ação patogênica, somente duas são hoje aceitas como tendo valor: a da plas-mocoagulação e a de hemólise. A primeira é evidentemente melhor, porque é mais simples, de mais rápida execução, mais sensível e mais precisa.

Isolado o germe e pesquisada a presença ou não de ação patogênica, o mesmo deve ser classificado.

Uma classificação simples e com vistas à ação patogênica ou não do germe é de que tanto necessita o clínico como o cirurgião, o especialista como o higienista. Inúmeras são as classificações estabelecidas :

- 1 — Classificação segundo a pigmentação.
- 2 — Classificação bioquímica.
- 3 — Classificação serológica.
- 4 — Classificação segundo a importância médica.

As duas primeiras são muito criticáveis, porque a pigmentação e as propriedades fermentativas do estafilococo não só podem apresentar variação, como ainda pouco exprimem com relação á ação patogênica do germe.

A classificação serológica tem seu valor, mas não pode ser tomada isoladamente, pois levaria a erros de interpretação.

Foi estabelecido (MESQUITA, 1944) um tipo de classificação baseada na pigmentação, hemólise e plasmocoagulação, que parece preencher as finalidades da prática, pois dá uma idéa, tanto quanto possível exata, do valor em Patologia médico-cirúrgica e em Higiene, da raça isolada.

CLASSIFICAÇÃO DO ESTAFILOCOCO SEGUNDO EÇA PIRES DE MESQUITA

Pigmentação	Hemólise	Plasmocoagulação	Nomenclatura
Dourada	+	+	<i>Staphylococcus pyogenes hemolyticus.</i>
Branca	+	+	
Citrina	+	+	
Dourada	—	+	<i>Staphylococcus pyogenes anhemolyticus.</i>
Branca	—	+	
Citrina	—	+	
Dourada	+ ou —	—	<i>Staphylococcus saprophyticus.</i>
Branca	+ ou —	—	
Citrina	+ ou —	—	

A presente classificação teve por finalidade, com uma simples denominação, dar uma idéa da presença ou não de ação patogênica do germe classificado. Sob o ponto de vista clínico e também sob o ponto de vista higien-sanitário, apresenta ela a vantagem de dar ao médico, bem como ao higienista, um melhor auxílio na interpretação dos resultados de laboratório, pois a ambos não interessa saber se o estafilococo isolado é branco, amarelo

ou citrino, mas sim se êle tem ou não capacidade de ação patogênica. Ora, pela presente classificação, quando se falar em *Staphylococcus pyogenes hemolyticus* ou em *Staphylococcus pyogenes anhemolyticus*, já se está, automaticamente, falando em germe patogênico, enquanto que, ao se falar em *Staphylococcus saprophyticus*, já se está indicando que o germe não é dotado de ação patogênica, ou por outra, não é hemolítico nem coagulante para o plasma.

Esta necessidade de uma identificação que satisfaça ao clínico, ao cirurgião, ao especialista em Saúde Pública e ao próprio homem de laboratório não diz respeito somente aos estafilococos mas, sempre que possível, deveria ser utilizada para uma boa série de germes que muitas vezes são classificados em função de suas atividades bioquímicas, do aspecto de sua colônia em cultura pura e de muitas outras características que nada informam ao médico ou ao especialista sob o aspecto prático da ação que tais germes exercem sobre o organismo humano.

B — SÍNDROME GERAL DE ADAPTAÇÃO DE SELYE ; fig. 4.

INTRODUÇÃO — “A adaptação ao meio que nos envolve é uma das reações fisiológicas mais importantes da vida ; poder-se-ia mesmo dizer que a capacidade de adaptação aos estímulos exteriores é a característica essencial da matéria viva”.

Assim inicia Selye o capítulo em que estuda as relações da síndrome geral de adaptação com a clínica humana, na qual põe em relêvo o papel da Endocrinologia.

Entre nós, muito se tem exaltado o valor das suprarrenais nas moléstias infecto-contagiosas, quer agudas, quer crônicas, devendo ser recordado o trabalho de ANNES DIAS (1940), em que o autor estuda os “Problemas clínicos da insuficiência suprarrenal”, passando em revista as conseqüências da gripe, da difteria, da pneumonia e de outras infecções sobre a citada glândula.

CLEMENTINO FRAGA (1928) apresenta à “American Society of Tropical Medicine” sua comunicação sobre : “Síndrome suprarrenal e impaldismo”, na qual evidencia lesões anátomo-patológicas das suprarrenais de origem palúdica.

ALMEIDA PRADO (1949) publica bem documentada conferência sobre um caso de “Amiloidose e artrite reumatóide”, em que são comprovados, por biópsia, substância amiloidéica testicular, depósitos amilóides no fígado ; por sua vez, o doseamento dos 17 cetosteróides na urina revelou a baixíssima taxa de 0.350 mg de hormônios esteróides e, assim, o hipometabolismo basal de menos 22% está selado pela cifra de 279% de hipercolesterolemia. Ademais, a biópsia ganglial jugular direita revelou a etiologia : “tuberculose caseosa”.

Modernamente, se tem verificado, além do mais, a grande importância que representam as suprarrenais nas reações orgânicas do indivíduo a um grande número de estímulos, tais como traumas, intervenções cirúrgicas, moléstias agudas e crônicas, etc.

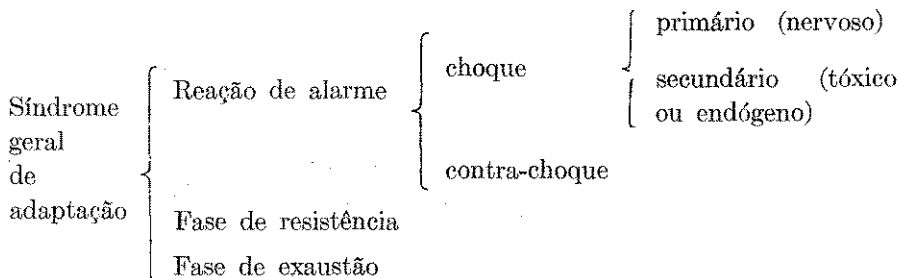
O estudo das suprarrenais em relação aos grandes queimados e qual o papel dessa glândula na fisiopatologia das queimaduras (MESQUITA SAMPAIO, 1944) será mais um atestado da intervenção do terreno endocrinopático nas infecções. A participação das suprarrenais, nessa eventualidade, é comprovada pelo comprometimento da sua estrutura (edema, congestão, hemorragia, necrose focal), do que sobrevém a insuficiência suprarrenal, causa segura da freqüência das infecções secundárias nos grandes queimados, por onde sucumbem êles.

Ainda êste ano, ALBRIGHT e TALBOT (1947), em trabalhos publicados no "Journal of Clinical Endocrinology", tendo sido um dêles o tema de conferência sôbre "aspectos metabólicos da convalescença", estudaram, com exuberância de provas, as relações entre os traumas cirúrgicos, obstétricos, algumas moléstias infectuosas e formas de debilidade crônica com a eliminação dos 17 cetoesteróis e com a eliminação dos 11 cetoesteróis. Concluíram êsses autores que tais fatos vêm, mais uma vez, comprovar as idéias de Selye, em suas várias fases, em sua evolução, nas provas de laboratório que a confirmam, nas teorias que a explicam e, finalmente; como do seu conhecimento resultam benéficos proveitos ao médico, ao cirurgião, ao higienista e, portanto, ao doente, à coletividade.

DEFINIÇÃO. ESTÍMULOS DE ALARME. FASES DE REAÇÃO.

É um conjunto de reações gerais, não específicas à ação prolongada de um agente agressor, que se traduz por uma adaptação ou não do organismo ao estímulo agressor e que pode estar dentro dos limites da fisiologia normal ou da patológica.

Têm-se, pois, de um lado, os agentes agressores, também denominados estímulos de alarme, e, de outro, a reação do organismo que se faz segundo as seguintes fases :



O organismo reage aos vários estímulos agressores consoante a intensidade e as qualidades de tais estímulos, variando a reação de alarme, a fase de resistência e a de exaustão de acôrdo com tais agentes de agressão; não é obrigatória a manifestação patológica de síndrome (pode ser apenas fisiológica), bem como não é necessário o aparecimento de tôdas as fases e nem mesmo se observa sempre o respeito cronológico das fases estabelecidas. Pode-se, por exemplo, ter contra-choque sem que tenha havido choque.

A reação de alarme representa o início da síndrome e pode ser definida como a série de fenômenos iniciais, gerais, inespecíficos, em geral agudos, do organismo. Nessa fase, se o indivíduo reagir passivamente, tem-se o choque, estado de sofrimento geral intenso com desenvolvimento brutal; se o indivíduo reagir ativamente, tem-se o chamado contra-choque, período que pode mediar o espaço de dois choques consecutivos. O choque pode ser primário (em geral neurógeno) ou secundário (tóxico, endógeno).

A fase de resistência é representada pela série de fenômenos orgânicos gerais, inespecíficos, contínuos e prolongados, em geral de tipo crônico. Geralmente, as manifestações dessa fase são inversas àquelas da reação de alarme e resultam da constância do estímulo de alarme sôbre o organismo.

A fase de exaustão seria a fase, nem sempre presente, em que a reação se extingue diante do estímulo de alarme.

Os agentes agressores ou estímulos de alarme são da mais variada ordem, podendo-se citar os seguintes :

	Traumas mecânicos
	„ obstétricos
	„ de postura
	„ nervosos
	„ psíquicos
	Exercício muscular
	Resfriamento
Agressão inespecífica	Oclusão temporária de vasos sangüíneos
	Queda da tensão de oxigênio
	Raio X e <i>Radium</i>
	Colchicina
	Moléstias infectuosas
	Toxinas bacterianas
	Substâncias químicas várias
	Hormônios
	Abalos nervosos funcionais

EVOLUÇÃO DA SÍNDROME GERAL DE ADAPTAÇÃO. SINTOMATOLOGIA.

Vistas as fases da síndrome, considerar-se-ão, em seguida, quais as modificações orgânicas quando submetida a estímulos de alarme. Na síndrome geral de adaptação, o organismo apresenta modificações de três tipos principais :

- a) — modificações funcionais.
- b) — modificações metabólicas.
- c) — modificações morfológicas.

a — MODIFICAÇÕES FUNCIONAIS. As principais modificações funcionais são as que seguem :

1 — Tempo de coagulação. — O tempo diminui, o que significa melhor coagulação do sangue e isso, ao que parece, em virtude da maior formação de fibrina.

2 — Tempo de sangramento. — Também diminui, achando alguns autores que isso se deva à ação do hormônio corticotrófico (hipofisário) sobre as suprarrenais, com maior produção de corticóides que, por sua vez, libertariam, no baço, a esplênina. Essa última substância seria a responsável pelo menor tempo de sangramento.

3 — Pressão arterial. — Nos estímulos de alarme há, de início, uma elevação por influência da adrenalinemia que se estabelece. Na fase de choque da reação de alarme, ela cai, enquanto que, no contra-choque, se normaliza ou se torna ligeiramente alta. Na fase de resistência, surge a nefroesclerose, que pode ser considerada como uma inadaptabilidade do organismo, e teremos, assim, a hipertensão. A fase de exaustão seria aquela em que a pressão cairia, não para se normalizar, mas para a hipotensão. Essa fase, rara talvez, poderia aparecer em certos casos de hipertensão, em que, antes da pressão se fixar num ponto alto, teria quedas intermitentes ; seriam, quiçá, fases sucessivas de resistência e exaustão pelas quais o organismo passaria, até que a síndrome de adaptação se estabelecesse definitivamente.

4 — Resistência orgânica. — Como se comportam, então, as resistências do organismo submetido aos estímulos de alarme ?

Inicialmente, deve ser lembrado que a resistência orgânica se faz segundo dois modos : especificamente e inespecificamente, ou resistência cruzada.

Resistência específica é aquela decorrente do modo de reação do organismo diante de um mesmo estímulo de alarme. A reação a êsse estímulo far-se-ia sempre da mesma forma.

Resistência cruzada é aquela que se verifica quando um organismo, submetido a determinado estímulo de alarme, adquire capacidade de reação, não só a esse estímulo como a outro diverso. Por exemplo, o caso do epitélio que se forma no fígado por ação do nitrato de urânio, o qual protege o fígado contra a ação tóxica do clorofórmio. Ao que parece, essa resistência cruzada resulta da ação dos hormônios corticotróficos hipofisários sobre os corticóides suprarrenais, isto é, seria o próprio mecanismo da síndrome geral de adaptação de Selye.

Este mecanismo da resistência cruzada explicaria o modo de ação de certos agentes terapêuticos inespecíficos em dado número de moléstias — eles agiriam modificando o “terreno”, isto é, aumentando a resistência orgânica, tal como acontece na proteínoterapia, na malarioterapia; os próprios soros e vacinas agiriam, talvez, específica e inespecificamente, até certo ponto, dentro de um mesmo mecanismo hormonal (adiantaria vacinar indivíduos em debilidade crônica, ou seria isso até perigoso? qual o motivo das chamadas fases negativas das vacinas? não seria a reação de alarme que ocorre no organismo?)

Segundo Selye, as resistências específicas e cruzadas seriam menores na fase de choque e se elevariam no contra-choque da reação de alarme; na fase de resistência, a resistência específica seria maior e a cruzada seria menor (importância desse fato relativamente à terapêutica inespecífica); na fase de exaustão, ambas estariam diminuídas.

b — MODIFICAÇÕES METABÓLICAS.

1 — Temperatura. — Durante a reação de alarme, geralmente, a temperatura cai na fase de choque e se eleva no contra-choque. Estudando os métodos de determinar a fase de ovulação da mulher, SIEGLER (1944) afirma: “A medida da temperatura basal é de técnica simples. O método de identificação do período de fertilidade pode ser recomendado preferentemente em relação aos métodos incertos do calendário”. Não seria a ovulação um estímulo de alarme que daria lugar a energias de adaptação de tipo fisiopatológico?

2 — Metabolismo basal. — No período da reação de alarme, durante o choque, há queda do metabolismo basal e no contra-choque há normalização.

3 — Cloremia. — Aumenta na fase de choque, diminui no contra-choque, normaliza-se ou aumenta na fase de resistência; na fase de exaustão é normal ou baixa.

4 — Potassemia. — Aumenta na reação de alarme, sendo, para alguns, dos melhores sinais da reação.

5 — Fosfatemia. — É, também, maior durante a reação de alarme.

6 — Volume sanguíneo. — Cai durante a fase de choque e se eleva no contra-choque.

7 — Diurese. — É menor no choque e maior no contra-choque.

8 — pH — Seria ácido durante o choque e normal no contra-choque.

9 — Vitaminas. — Como se comportam as vitaminas do organismo durante as fases da síndrome geral de adaptação de Selye ? Seria interessante o estudo da eliminação e da taxa sanguínea das vitaminas, especialmente da vitamina C, tão ligada à função suprarrenal.

10 — Hormônios. — O que se disse para as vitaminas caberia para os hormônios, haja vista o valor que ALBRIGHT e TALBOT (1947) atribuem à eliminação dos 17 cetoesteróis, na síndrome de Selye.

11 — Glicídios. — O metabolismo dos glicídios está, em grande parte, na dependência da hipófise e das suprarrenais, sofrendo, assim, as conseqüências decorrentes da síndrome de Selye. Segundo Selye, os corticosteróis podem ser de dois tipos : corticóide glicoativo e os corticóides ativos sobre os sais (desoxicorticosterona). Ao primeiro caberia papel importante no metabolismo dos glicídios, sendo, para alguns autores, o hormônio neoglicogenético, a partir do qual as proteínas se transformariam em açúcar — é o chamado corticosteróide S. A glicemia (variando segundo o estímulo de alarme) é, em geral, elevada durante o choque, baixa no contra-choque, normal ou baixa durante a fase de resistência e baixa na fase de exaustão. Nas moléstias infectuosas, há maior produção de corticosteróis glicoativos, bem como quando há queda da pressão barométrica, em ambos os casos surgindo a hipertrofia das cortiças suprarrenais. Os estrógenos inibem a utilização da glicose. O diabético correria maiores riscos de infecção, não pela hiperglicemia em si, mas pelo fato de não aproveitar a glicose que iria reagir contra os estímulos de alarme : será por isso que se deva dar, em muitos casos, insulina e glicose para auxiliar o combate às infecções dos diabéticos.

12 — Metabolismo protéico. — A azotemia é maior nas fases de choque e de contra-choque das reações de alarme. Normaliza-se, em geral, na fase de resistência e, na fase de exaustão, é ainda desconhecida. A uréia, o ácido úrico, a creatinina, os aminoácidos e os polipeptídios aumentam na reação de alarme. As variações da proteinemia total, observada na síndrome geral de adaptação, têm grande interesse, especialmente na fase de choque e de contra-choque da reação de alarme. Chamamos a atenção para o fato de EÇA PIRES DE MESQUITA, em colaboração com RAUL BRIQUET (1945), ter tido o privilégio de introduzir, em nosso meio, o método de Phillipps — dosagem ultra rápida da proteinemia com o auxílio de simples soluções de sulfato de cobre, — de tamanha utilidade prática na clínica, em função dessas noções.

c — MODIFICAÇÕES MORFOLÓGICAS. ANATOMIA PATOLÓGICA.

Na síndrome de Selye, verifica-se um sem número de perturbações morfológicas, especialmente ligadas às glândulas ineretórias. Assinalaremos, de modo rápido, tais alterações.

Hipófise. — Perda de granulações eosinófilas e invasão basófila.

Suprarrenais. — De modo geral, há aumento da porção cortical com diminuição de lipídicos, sendo que o maior volume cortical, em geral, cai do contra-choque à fase de exaustão. Durante o choque, o volume é normal.

Timo, gânglios linfáticos, baço, amígdalas e apêndice. — Sofrem uma involução, de um modo geral, com diminuição dos elementos linfóides, menor resistência local e infecção focal (amigdalite, apendicite, etc . . .) com linfopenia e leucocitose, bem como a liberação de anticorpos circulantes para dar maior poder de imunidade.

Glândulas genitais. — Involução, em ambos os casos (no homem e na mulher). ARNALDO RASCOWSKI (1943), em conferência realizada no Ambulatório de Endocrinologia da Santa Casa de São Paulo, exibiu casos de síndrome adiposo-genital de etiologia psíquica (traumas psíquicos) e, em seu trabalho sobre a evolução sexual da criança, diz: "o futuro estudo das reações biológicas de recém-nascidos, com base na concepção de Selye, há de mostrar-nos interpretações das mais preciosas com relação à inibição de amadurecimento, vinculadas à inibição do timo e zona andrógena e à exaltação do mecanismo de defesa e de suas estruturas".

Pâncreas. — Involução com neoformação de ilhotas de Langherans (ilhas gigantes). Já se tem encontrado pancreatites agudas no curso de fraturas.

Tireóide. — Sofre involução inicial e depois hiperplasia. Para Means, a tireotoxicose seria uma expressão da reação de alarme.

Pulmão. — Hiperemia, edema e pneumonia podem ser encontrados.

Fígado. — Involução com infiltração gordurosa e necrose têm sido verificadas.

Rim. — Albuminúria, hemoglobinúria com nefrosclerose e conseqüente hipertensão maligna.

Articulações. — Poliartrites ; fig. 5.

PROVAS QUE CONFIRMAM A SÍNDROME GERAL DE ADAPTAÇÃO.

Estudando, no laboratório, os fatores que intervêm na síndrome de Selye, é que se pode concluir sobre o valor das provas que a confirmam.

1.º — Hipofisectomia e suprarrenalectomia. — Sabendo-se agirem os estímulos de alarme sobre a hipófise e esta, por sua vez, sobre as suprar-

renais, que pelos seus corticóides fariam a síndrome geral de adaptação, a hipofisectomia e a suprarrenalectomia constituiriam provas confirmativas da reação de adaptação de Selye. Assim, por exemplo, estas práticas impedem a involução do timo, do baço e dos gânglios linfáticos, evitando as conseqüências que um estímulo de alarme poderia desencadear sobre determinado organismo.

2.º — A injeção de hormônios corticóides também pode fazer uma contra-prova da síndrome de adaptação e, segundo as experiências de Selye, favorece o contra-choque da reação de alarme; daí a grande importância de seu uso terapêutico nos grandes queimados.

3.º — Os extratos ântero-hipofisários e os hormônios corticótrofos agem também da mesma forma.

4.º — A testosterona e a transfusão de sangue também evitam o choque, auxiliando o contra-choque.

5.º — A alimentação também influi muito na evolução da síndrome de Selye: 1 — as proteínas e sais, sem glicídios, favorecem a ação dos estímulos de alarme; 2 — os glicídios, mesmo na ausência de sais e de proteínas, impedem os estímulos de alarme. Já se tem conseguido evitar ulcerações gástricas em animais submetidos a estímulos ulcerantes apenas com o uso de glicose endovenosamente; e o jejum sensibiliza o organismo aos estímulos de alarme.

6.º — A eliminação dos 17 cetoesteróis. — No estudo das provas da síndrome de adaptação é de grande realce, como foi demonstrado por ALBRIGHT e TALBOT (1947), a pesquisa da eliminação dos 17 cetoesteróis e dos 11 cetoesteróis (ALBRIGHT e TALBOT, 1947 a) nos traumas clínicos e cirúrgicos e na debilidade crônica, a qual está relacionada com a síndrome de Selye, ou seja, com a função das suprarrenais. Esses autores fizeram cerca de 4.000 determinações em indivíduos normais (homens e mulheres), em indivíduos traumatizados (clínica e cirúrgicamente) e em portadores de debilidade crônica. Estudando a eliminação de 17 cetoesteróis em homens e mulheres normais, encontraram: 12,5 mg, em 24 horas, para o homem e 8,2 mg para a mulher. Verificaram, também, o ritmo diurno e noturno da eliminação da substância e concluíram que, provavelmente, em virtude da pouca solicitação das suprarrenais, no período da noite, os 17 cetoesteróis eram eliminados praticamente na metade da dose da eliminação diurna. Estudando a excreção urinária diariamente em uma funcionária do laboratório, tais autores surpreenderam, em dado momento, uma queda na eliminação dos 17 cetoesteróis (ver fig. 6), mais ou menos no 77.º dia de dosagem; dois dias depois (79.º dia), a paciente teve uma crise aguda de apendicite e foi operada, nesse momento surgindo, então, a reação de alarme (pelo trauma cirúrgico) com uma elevação na eliminação dos 17 cetoesteróis.

Estudando a curva de eliminação dos 17 cetoesteróis, êsses autores apresentam um gráfico (ver fig. 7), em que se comparam as quatro curvas de eliminação após traumas agudos.

1.º — Curva da eliminação feita em 14 homens normais e que sofreram trauma agudo. Notar a elevação da eliminação (reação de alarme), indicando solicitação da suprarenal. No homem, a eliminação dos 17 cetoesteróis é maior e cai de maneira mais brusca que na mulher. Pode-se notar, também, que, depois da zona de alarme, o organismo — isto vale, também, para a mulher — passa a eliminar menos 17 cetoesteróis que anteriormente, fase essa que, provavelmente, corresponde à de resistência e que pode caminhar para a exaustão ou para a normalidade.

2.º — Curva de eliminação feita em 18 mulheres normais. — Notar que os fenômenos da reação de alarme são menos acentuados, sendo a queda da eliminação mais lenta.

3.º e 4.º — Nas outras duas curvas, tem-se observação muito importante: homens e mulheres em debilidade crônica praticamente não mostram a zona de reação de alarme da síndrome de Selye. Ao que parece, estarão êles numa fase crônica de exaustão de modo que, aos estímulos de alarme, o organismo não reage convenientemente.

Ainda com relação à debilidade crônica, analisemos a tabela (fig. 8), publicada pelos mesmos autores, em que se nota a eliminação dos 17 cetoesteróis em algumas moléstias:

a — Nos homens com debilidade crônica, encontrou-se a eliminação dos 17 cetoesteróis média (24 h) de 6,2 mg e não 12,5 mg, como seria o normal.

b — Nas mulheres, a referida média foi de 4, 4 mg e não 8,2 mg, a taxa normal.

Na figura 9, temos o comportamento dos 17 cetoesteróis em um caso de mulher com virilismo, mostrando a curva e a reação de alarme um tipo exatamente semelhante ao do homem, inclusive a eliminação pré-traumática, que era de mais ou menos 13 mg nas 24 horas. É interessante notar ainda, e por isso escolhemos êste caso, que o estímulo de alarme era exatamente u'a moléstia infectuosa — a escarlatina.

Consideradas as provas confirmativas da existência da síndrome de adaptação de Selye, passaremos a considerar, de modo rápido, as teorias que procuram explicar a síndrome geral de adaptação.

TEORIAS DA SÍNDROME GERAL DE ADAPTAÇÃO.

Quanto às teorias da síndrome de Selye propriamente dita, a mais aceita é a teoria das correlações funcionais (hormonais); fig. 10. Todo o

desenvolver do tema gira em tórno dessa concepção, tornando-se, por isso, dispensável detalhes maiores sôbre a teoria hormonal.

Lembraremos apenas que, quando da apresentação do nosso trabalho sôbre a "Fisiopatologia dos grandes queimados e a sua terapêutica à luz da Endocrinologia" (MESQUITA SAMPAIO, 1944), mostramos, em esquema elucidativo (fig. 11), relações entre o choque e a inflamação serosa. Para a síndrome geral de adaptação de Selye cabem as mesmas considerações feitas relativamente à inflamação serosa.

CONCLUSÃO. IMPORTÂNCIA DA SÍNDROME DE SELYE.

1 — IMPORTÂNCIA MÉDICO-CIRÚRGICA. — Em Medicina, em Cirurgia e em Medicina psicossomática, a importância da síndrome de Selye é muito grande, como vimos no transcorrer destas considerações. Basta que se atente para os estímulos de alarme e verificar-se-á tal importância. Pela síndrome de adaptação de Selye se poderá compreender a nefrosclerose e a hipertensão; a hipotensão, fig. 12, (Selye, 1946); o reumatismo poliarticular agudo; a periartrite nodosa; a patologia das úlceras gastrintestinais, da apendicite, da amigdalite, da diabete, fig. 13 (MESQUITA SAMPAIO, 1946); a síndrome de Cushing, a síndrome de Simonds e a alergia. William diz: "A alergia não é senão a perversão de uma reação fisiológica normal — reação de alarme de Selye."

2 — IMPORTÂNCIA HIGIÊNICO-SOCIAL. — Basta que se atente para as moléstias infectuosas como estímulo de alarme, para a debilidade crônica, para a desnutrição geral do organismo, e verse-á como, no estudo da síndrome geral de adaptação de Selye, as suprarrenais, hipófise, a tireóide, a Endocrinologia enfim, desempenharão papel de relevância nas moléstias infectuosas em geral. Haja vista, para citar um exemplo, as infecções que ocorrem como complicação temível nos grandes queimados, consequência da grave agressão sofrida pelas suprarrenais desses pacientes, cuja cura poderá ser obtida quando empregada a hormonioterapia cortical intensiva e a tempo.

C — PROFILAXIA DAS INFECÇÕES

Na profilaxia das moléstias infectuosas, "ipso facto", devem ser, pois, levados em conta os dois fatores: terreno endocrinopático e infecção.

Como ficou dito de início, estudar-se-á como tipo a infecção estafilocócica e, assim, a sua profilaxia será considerada com maiores detalhes.

Na parte referente ao terreno endocrinopático, será assinalada a importância de certas glândulas incretórias em alguns tipos de infecção.

Quanto à terapêutica, analisar-se-á o papel dos agentes químicos e biológicos na terapêutica antiestafilocócica.

I — MÉTODO USADO.

O método ideal seria aquêle no qual se aproveitassem casos humanos de estafilocócias tratados pela anatoxina e casos, outros, tratados pela penicilina ; mas, antes de se utilizar material humano, achou-se conveniente fazer a aludida pesquisa em animais de laboratório.

a — ANIMAIS DE EXPERIÊNCIA. — Foram usados coelhos padronizados com alimentação balanceada e com o pêso próximo de 2 kg, sendo os animais, na maioria, machos. Tomaram-se 30 animais separados em três lotes de dez (fig. 14).

Os três lotes foram separados com o seguinte critério :

1.º lote — Neste lote foram inoculados estafilococos a-fim-de se verificar qual a ação do germe sôbre o organismo dêsses animais, especialmente qual seria a provável curva de imunidade que se estabeleceria ao mesmo tempo em que se observavam os outros dois lotes. Êste lote pode ser chamado o lote testemunho da experiência.

2.º lote — No segundo lote, após a inoculação dos germes, procedeu-se à injeção de penicilina, sendo, portanto, tal lote destinado à observação da provável curva de imunidade que se possa estabelecer em um organismo com infecção estafilocócica e tratado pela penicilina.

3.º lote — O último lote de 10 coelhos foi destinado à observação da curva provável de imunidade que se estabelece após a aplicação de anatoxina estafilocócica em um organismo com infecção por estafilococos.

Separados os três lotes de animais selecionados para tal tipo de experiência, passou-se à segunda parte do método que se resolveu adotar, ou seja a verificação do teor de sôro de tais animais em anti-alfa-hemolizinas. Sem êsse cuidado não se poderia avaliar o ulterior desenvolvimento do estado de imunidade antiestafilocócica dos animais.

b — DOSAGEM PRÉVIA DE SÔRO DOS ANIMAIS A SEREM INOCULADOS.

MÉTODO. — O poder antitóxico de um sôro pode ser avaliado, com relação aos estafilococos, por um dos seguintes métodos : método hemolítico, método intradérmico (em cobaias), método intravenoso (em camundongos). O primeiro é método simples, prático e realizado "in vitro", enquanto que os demais são métodos realizados "in vivo".

Êsses métodos são todos bons, podendo ser empregados indiferentemente, pois os resultados com êles obtidos são sempre próximos (Nelis) ; o método hemolítico, além de simples e seguro, é rápido, tendo sido o método escolhido para a dosagem da anti-alfa-hemolizina dos animais em experiência.

O princípio de tal método se baseia na determinação da menor quantidade de sôro capaz de impedir a atividade hemolítica de uma certa quanti-

dade de toxina de título previamente conhecido (a titulação desta é feita por sôro-padrão).

A realização do método se faz com o auxílio de diluições crescentes de sôro, às quais se juntam quantidades iguais da toxina de título conhecido, em todos os tubos, quantidade essa de toxina que representa o chamado limite hemolítico (1. H.), correspondente, assim, a uma Unidade.

A mistura de sôro e toxina é agitada e deixada em repouso, durante quinze minutos, à temperatura ambiente.

A cada tubo adiciona-se uma gôta de hemácias de coelho lavadas e diluídas a 1 : 9 em sol. fisiológica. Os tubos são, então, agitados, tampoados e levados ao banho-maria e 37.°C, durante uma hora. Depois desse prazo, são retirados do banho-maria, deixados à temperatura ambiente, pelo espaço de uma hora, quando, então, é feita a leitura.

A leitura é feita de tubo em tubo com a intenção de se saber onde há 50% de hemólise, pois tal tubo deve representar o ótimo de diluição em que o sôro impede a ação da toxina sobre as hemácias.

De posse desse resultado, multiplicou-se o título da toxina pelo grau de diluição do sôro analisado para se saber qual o título do sôro, em Unidade Internacional, de anti-alfa-hemolizinas estafilocólicas.

É sempre aconselhável, principalmente quando se comparam dosagens de sôro do mesmo animal em épocas diferentes, o uso de hemácias de um mesmo animal. Realmente, em tôdas as dosagens foram usadas sempre as hemácias de um mesmo coelho, sangrado no dia em que se ia fazer a dosagem. O sangue do animal era desfibrinado e lavado, três vezes, com solução fisiológica esterilizada.

Usando esse método, fêz-se a primeira dosagem nos três lotes de animais, sendo os resultados muito semelhantes àqueles encontrados entre nós por ASHCAR (1941) em coelhos, resultados esses que podem ser vistos na tabela anexa ; fig. 14.

O título do sôro desses animais serviu de ponto de partida para se avaliar o desenvolvimento da possível imunidade antiestafilocócica que se iria, então, procurar obter.

c — INOCULAÇÃO.

GERME. O germe inoculado foi isolado de um paciente com furunculose : estafilococo amarelo, hemolítico e dotado de grande poder coagulante, coagulando o plasma em cerca de 30 minutos. Acreditou-se, por isso, estar diante de um germe dotado de poder patogênico, pois a prova de plasmocoagulação positiva é, ao que parece, o melhor índice de ação patogênica.

VIAS DE INOCULAÇÃO. N.º DE INOCULAÇÃO.

Em cada um dos 30 coelhos foi inoculada uma suspensão salina, bem homogênea, do referido germe, subcutâneamente, na parede abdominal do animal, após prévia depilação, de tal modo que fôsse favorecida a posterior evolução das prováveis lesões. Utilizou-se, também, de tabelas de temperatura, a fim de surpreender-se um provável surto febril nos animais.

Alguns dias depois da primeira inoculação, encontraram-se, em quase todos os animais, reações que não passaram de um ligeiro eritema, seguido, logo depois, de uma tumefação, de ordinário de pequena proporção. Como, em um só coelho, fôsse conseguida lesão bem apreciável, com necrose de cerca de 3 cm de diâmetro (ver fotografia; fig. 15), resolveu-se fazer uma segunda inoculação, desta vez intramuscular. Foram inoculados todos os animais, na face interna da coxa, com o estafilococo isolado, então, de um dos animais que havia morrido 48 horas após a inoculação (coelho n.º 25). Esse coelho, é preciso que se diga, teve uma de suas patas dianteiras desarticulada acidentalmente, fato que talvez tenha contribuído para melhor ação do germe que havia sido inoculado, pois teria havido quebra da resistência provocada pelo traumatismo. Dêsse coelho foi isolado um estafilococo dourado, plasmocoagulante e hemolítico, germe que foi utilizado na 2.ª inoculação dos animais.

REAÇÕES.

Ainda desta vez as reações se limitaram praticamente a uma tumefação local de grau não acentuado em quase todos os animais.

As cifras de evolução das temperaturas mostraram o modo pelo qual os animais reagiram, tanto à primeira como à segunda inoculação.

É interessante assinalar que os animais inoculados apresentavam reações que não correspondiam, quer localmente, quer quanto à reação geral, à quantidade de germe inoculado, principalmente levando-se em conta o baixo teor em anti-alfa-hemolizinas, apresentado pela maioria dos animais.

Isto, até certo ponto, vem confirmar a idéia da maioria dos autores de que a avaliação da ação patogênica de um germe pelas provas de inoculação em animais sensíveis é de valor muito relativo; vem também avivar a opinião de que até possa entrar em jôgo, num mesmo organismo animal, uma imunidade local e uma imunidade geral, pois lesões locais foram mínimas em relação à quantidade de germes injetada. Fato que testemunhárá, ainda uma vez, a ação do terreno endócrinopático.

Quanto a outras reações que os animais pudessem apresentar diante da inoculação de tal espécie de germe, convém ser lembrado ainda que, dos animais posteriormente mortos (em geral após sangrias), o exame his-

topatológico dos principais órgãos nada revelou de importante relativamente a um estado infectuoso.

APLICAÇÃO DE PENICILINA.

Aos coelhos de n.º 30 a 39 foi injetada a penicilina, na dosagem total de 26.400 U. O., tendo sido iniciada a inoculação às 9 horas da manhã e continuada cada 3 horas, até 6 horas da manhã do dia seguinte (procurou-se aplicá-la segundo os moldes usuais da aplicação em clínica, guardando, com relação à dosagem total, as devidas proporções.) Cada 3 horas foi, assim, injetada a dose de 3.300 U. O., perfazendo uma dose total de 26.400 U. O. em 18 horas de inoculação contínua. Considerando-se que o peso de cada animal é, em média, 2 kg, essa dose pode ser considerada uma dose muito acima daquela que, de ordinário, se usa nos indivíduos adultos.

Na tabela anexa, fig. 14, pode-se ver o ponto da experiência em que foi administrada a penicilina.

Com relação à quantidade de penicilina usada, cumpre afirmar que era de origem americana e que a sua dosagem revelou, exatamente, a taxa em U. O. indicada pelo fabricante.

Cêrca de 4 horas após a última injeção de penicilina, foram os animais sangrados para ulterior verificação do título dos soros em anti-alfa-hemolizinas, sendo que tais resultados serão comentados oportunamente.

APLICAÇÃO DE ANATOXINA.

A anatoxina administrada ao outro lote de coelhos (de n.ºs 40 a 49), fabricada pelo Instituto Butantan de São Paulo, foi por via subcutânea, a via geralmente usada em clínica. Convém notar que a dosagem empregada foi também alta, relativamente àquela aplicada em casos humanos. Somente depois da aplicação de duas doses de anatoxina (0,15 e 0,20) é que se resolveu fazer uma sangria para avaliar o título em anti-alfa-hemolizina dos animais injetados. Os resultados de tais dosagens, inscritos na tabela anexa, (fig. 14) serão tratados a seguir.

RESULTADOS.

Na tabela anexa (fig. 14) tem-se as respectivas datas em que foram feitas as dosagens da anti-alfa-hemolizina nos soros de coelhos; quer nos testemunhos (apenas inoculados com cultura de estafilococos, coelhos de n.ºs. 20 a 29), quer naqueles em que se aplicou a penicilina (inoculados com cultura e, depois, injetados com penicilina, coelhos de n.ºs 30 a 39), quer, ainda, os que foram inoculados com estafilococo e, posteriormente, receberam injeções de anatoxina (coelhos de n.ºs 40 a 49).

Não há necessidade, positivamente, de comentar as diferenças entre o desenvolvimento de um estado de imunidade antiestafilocócica nos ani-

mais testemunhas, nos injetados com penicilina e nos injetados com anatoxina estafilocócica.

Com a auxílio das tabelas anexas, fig. 14 e fig. 16, poder-se-á avaliar, muito bem, as diferenças observadas no decorrer da experiência.

Basta uma comparação entre o estado de imunidade inicial e o final, avaliados pela dosagem das anti-alfa-hemolizinas dos animais, para se ter uma idéia do que representa a importância das aludidas armas terapêuticas, penicilina e anatoxina, na prática clínica.

Não se fez estudo de ordem estatística, por isso que demandaria um tempo inesequível com a feitura deste trabalho. Veja-se, assim, separadamente, como se comportou a imunidade antiestafilocócica, avaliada em anti-alfa-hemolizina no sôro dos animais estudados.

Antes, porém, seja lembrado que esta experiência visou apurar a imunidade antiestafilocócica sob um de seus aspectos mais importantes, aquêle referente ao poder anti-tóxico do sôro de animal infectado e tratado, sem ser depreciada, em absoluto, a importância da imunidade celular, aquela que poderá ser avaliada pelo poder fagocitário dos leucócitos do organismo infectado, através do chamado índice oposônico.

a — IMUNIDADE DOS COELHOS TESTEMUNHOS.

A imunidade dos coelhos do primeiro lote (n.ºs 20 a 29), coelhos em que se inoculou, como para os animais dos demais lotes, suspensão salina de cultura pura de estafilococos dourados, hemolíticos e plasmocoagulantes, pode ser apreciada na tabela anexa (fig. 14 e fig. 16).

Coelhos cuja imunidade antitóxica do sôro não foi alterada : n.ºs 20 e 26 = 2 ;

Coelhos cuja imunidade antitóxica baixou : n.ºs 21-22-23-24-25-27-28-29 = 8 ;

coelhos cuja imunidade antitóxica subiu = 0.

Dêsses resultados se depreende que os animais inoculados tiveram, de um modo geral, queda final de teor em anti-alfa-hemolizinas no sôro, sendo que apenas 2 mantiveram os respectivos títulos. É de se notar que a dosagem intermediária, entre a primeira e a última, em alguns casos, mostrou uma elevação no título anti-tóxico do sôro dos animais.

b — IMUNIDADE DOS COELHOS INJETADOS COM PENICILINA.

Os animais de números 30 a 39 foram inoculados com a mesma suspensão de cultura de estafilococos dos 10 primeiros animais, e, posteriormente, tratados, cada um, com 26.400 U. O. de penicilina. Os resultados podem, também, ser apreciados na tabela anexa (figs. 14 e 16).

De modo resumido têm-se :

coelhos cuja imunidade antitóxica do sôro não foi alterada : n.º 32 = 1;

coelhos cuja imunidade antitóxica do sôro subiu :

30-31-33-35-39 = 5 ;

coelhos cuja imunidade antitóxica do sôro baixou : 34-36-38 = 3.

Êsses resultados mostram que, na maioria dos coelhos, houve aumento do teor do sôro em anti-alfa-hemolizinas, se bem que tal aumento fôsse quantitativamente bastante inferior àquele que se verificou para os animais que receberam injeções de anatoxina. No grupo dos animais que receberam penicilina, o maior aumento se verificou para o coelho n.º 30, que passou de 0,2, U. I. a 0,75 U. I. por cc (o aumento não atingiu a 4 vezes).

c — IMUNIDADE DOS COELHOS INJETADOS COM ANATOXINA ESTAFILO-CÓCICA.

O último lote de animais, coelhos n.ºs. 40 a 49, também inoculados com a aludida cultura de estafilococo e, posteriormente, tratados com a anatoxina estafilocócica (Instituto Butantan), mostra bem o valor imunizante de tal medicamento. Êste fato, que também pode ser verificado na fig. 14 anexa e na fig. 16, aqui vai resumido :

coelhos cuja imunidade antitóxica do sôro não foi alterada : n.º 46 = 1 ;

coelhos cuja imunidade antitóxica do sôro baixou : nenhum = 0 ;

coelhos cuja imunidade antitóxica do sôro subiu :

n.s 40-41-42-43-44-45-47-48-49 = 9.

Analisando tais resultados, à luz das tabelas, vê-se não só que em nenhum animal houve queda do valor da imunidade antitóxica do sôro, como ainda, nos 9 casos em que aumentou a taxa de anti-alfa-hemolizinas, tal aumento foi quantitativamente superior àquele verificado para os coelhos que receberam penicilina. Haja vista, por exemplo, o coelho n.º 43, que passou de uma taxa de 0,5, U. I. cc a 4 U. I. cc, ou seja um aumento de 8 vezes, enquanto que, no grupo dos que receberam penicilina, o aumento maior não atingiu 4 vezes o título inicial. Seguem-se outros 3 coelhos com um aumento de 5 vezes (n.ºs 40-47-49) ; e, finalmente, o coelho n.º 46, em que não houve alteração entre o título inicial e o final.

Em síntese : na fig. 16, temos o resumo da experimentação feita.

A sua análise confirma a idéia tão básica e importante em clínica : a penicilina, essa maravilhosa arma terapêutica de que tanto se tem ufanado a moderna Medicina, só terá verdadeiro valor, sob o ponto de vista sanitário — no combate às estafilocócias — quando completada pela anatoxina ou por outro medicamento capaz de elevar a imunidade geral, ou melhor, a defesa geral do organismo infectado.

Não se afirme que ela não favoreça o desenvolvimento de um melhor estado de imunidade, mas pode-se concluir com segurança que, em relação às anti-alfa-hemolizinas do sôro de coelhos infectados, seu parco efeito imunitário foi, de muito, superado pela anatoxina estafilocócica. Que essa contribuição ao estudo das estafilocócias em Patologia e na Clínica seja compreendida como um clamor favorável ao uso da anatoxina estafilocócica, associada ou mesmo após o uso da penicilinoterapia, sem ser, jamais, olvidado o terreno, o terreno endocrinopático. A penicilina cura uma infecção estafilocócica, mas não impede que uma reinfeção possa tornar-se um novo mal individual e possa ainda ser ponto de partida de uma disseminação coletiva da infecção estafilocócica, admitido terreno favorável, terreno endocrinopático. Urge ainda lembrar o problema futuro, admissível, das infecções que terão como causa estafilococos penicilino-resistentes. Tal problema será, sem dúvida, sempre mais grave se, com o entusiasmo de uma nova arma terapêutica, esquecer-se o velho rifão de que "prevenir é melhor que remediar". Assim, já a penicilina, como até a própria anatoxina, agirão com tanto mais eficácia, curativamente ambas e, preventivamente, apenas a anatoxina, em função do melhor terreno de defesa, vale dizer, de terreno endócrino-constitucional com suas defesas devidamente precatadas.

D — TERAPÊUTICA DAS INFECÇÕES À LUZ DA ENDOCRINOLOGIA.

Alicerçado nas idéias esposadas nos capítulos precedentes e de acôrdo com os modernos avanços no terreno clínico e terapêutico, no qual as glândulas incretórias vêm desempenhando papel saliente, merece ressaltar o que vem sendo conseguido.

Com efeito, os estudos de Selye, no campo experimental, exarados na "Síndrome geral de adaptação", transferidos para a Patologia e para a Clínica, permitem melhor compreensão etiopatogenética dos quadros mórbidos, trazendo, já, precioso subsídio para a terapêutica prática.

O papel desempenhado pelas suprarrenais nas diferentes infecções, demonstrado clínica e experimentalmente, sugeriu o emprêgo dos hormônios secretados por essas glândulas nos estados infectuosos, o que vem sendo coroado dos melhores êxitos.

A respeito, C. de MOURA CAMPOS (1950) publica bem elaborado apanhado geral, de grande oportunidade, do qual transcrevemos os seguintes trechos: "Os hormônios secretados pela parte cortical da glândula, derivados, quimicamente, de um hidrocarboneto tetracíclico, o peridro-ciclopenteno-fenantreno, ou simplesmente núcleo esteróide, de onde derivam,

igualmente, os hormônios gonadais, podem ser classificados em 3 ordens de esteróides :

1.º) — Os eletrocorticóides, que interferem no metabolismo da água e dos eletrólitos, regulando a retenção do sódio e do cloro e a excreção do potássio, sendo seu representante, já obtido sinteticamente e empregado em clínica, a desoxicorticosterona.

2.º) — Os glicocorticóides, que possuem um átomo de oxigênio no carbono 11 do núcleo esteróide, de fraca ação sobre o metabolismo eletrolítico, que, além de interferir no metabolismo das proteínas e gorduras, são, principalmente, estimulantes da neoglicogênese, produzindo glicose à custa de ácidos aminados, associada à menor oxidação tissular dos glicídios, provocam a destruição dos linfócitos (Doughbert e White), involução do timus e órgãos linfáticos, libertando gama-globulina que tem papel na produção de substâncias imunitárias (Doughbert e White), abaxam o nível dos eosinófilos do sangue circulante e aumentam a excreção urinária de ácido úrico.

3.º) — Os hormônios sexuais, ou do grupo N, segundo Albright (Nitrogen Hormones), porque favorecem a síntese de proteínas, determinando retenção azotada, e que compreendem os androgênicos, semelhantes na função e na estrutura à testosterona, e mais os estrogênicos e a progesterona.

Dentre os hormônios do segundo grupo, os glucocorticóides, também denominados por Albright do grupo S (Sugar Hormones), de atividade anti-anabólica e de fraca ação eletrolítica, dois deles têm merecido a atenção, mais particularmente, dos pesquisadores : o chamado Composto E, o 17-hidroxi-11-dihidro-corticosterona, ou cortisona, e o composto F (17-hidroxicorticosterona).

O composto E, de fórmula química determinada por Kendall em 1938, foi sintetizado por Sarett, em 1946, partindo de um ácido biliar, o ácido desoxicólico.

Sugeriu, posteriormente, Hens que a substância específica anti-reumática, que deveria ser um composto normal no organismo, pudesse ser um hormônio da suprarrenal, glândula admitida como de nítida importância na defesa orgânica, e seus estudos se concentraram para uma das frações dos esteróides, o composto E.

Em setembro de 1948, um grupo de investigadores da Clínica Mayo, Hens, Kendall, Slocumb e Polley, relatou os estudos feitos sobre 14 pacientes com artrite-reumatóide, empregando o composto E sob a forma de acetato de cortisona. Esses doentes apresentavam uma hemossedimentação, variando de 108 a 62 mm, e a sua moléstia datava de 5 meses a 5 anos.

Foram espetaculares os resultados obtidos. Em poucos dias, houve acentuada diminuição da rigidez muscular, com fácil mobilidade articular, aumento do apetite e melhoras das condições gerais, com a sensação de um estado de euforia. Em todos os casos houve queda da hemossedimentação, verificada de 5 a 9 dias após o início do tratamento. Em um dos pacientes, durante a ação terapêutica, apareceram algumas manifestações de perturbação endócrina como o aene ou hirsutismo e a amenorréia. As modificações no sêro sangüíneo fizeram-se para a normalidade, com aumento das globulinas, diminuição do índice albumina-globulina, aumento dos eritrócitos e da percentagem da hemoglobina, quando, nesses doentes, pre-existia um estado de anemia. Conseguiu-se, em um dos casos, praticar uma biópsia da sinovial, que mostrou diminuição do processo inflamatório.

O tempo de aplicação terapêutica variou de 8 a 61 dias. Fato geralmente assinalado foi a tendência às recidivas quando cessava a administração do produto, havendo, assim, necessidade de prolongar o tratamento para manter as melhoras obtidas.

Por outro lado, George Thorn e colab., que vêm, há tempo, estudando a questão dos hormônios na sua atividade e, à custa do aperfeiçoamento da técnica na obtenção e preparação de suas frações em certo grau de pureza, obtiveram, em excelentes condições de técnica e em quantidade adequada às pesquisas, o hormônio hipofisário estimulante da cortex suprarrenal, o hormônio adreno-corticotrófico, designado pelas iniciais ACTH pelos autores da língua inglesa (adrenal-cortico-trophic-hormone).

Com êsse hormônio, em condições de ser experimentado no organismo humano pelo grau de pureza conseguido, empreederam uma série de pesquisas clínicas, aplicando-o no tratamento da artrite reumatóide, onde já se havia ensaiado, com brilhante sucesso, como vimos acima, o acetato de cortisona.

Êsse primeiro acervo dos resultados clínicos consta de 10 pacientes, de 25 a 61 anos de idade, cuja moléstia datava de 3 meses até 28 anos, e nos quais o tratamento durou de 2 a 14 dias.

Os efeitos terapêuticos benéficos foram obtidos pela administração do ACTH na dose de 10 mg cada 6 horas (40 mg ao dia) e se apresentaram notáveis, semelhantes àqueles fornecidos pela ação do acetato de cortisona usado na dose de 100 mg.

Em todos os casos positivos, houve queda dos eosinófilos circulantes, que é um dos característicos da ação do hormônio. Em um caso negativo pela aplicação do hormônio, não houve mudança no nível dos eosinófilos, o que demonstrou que não houve ação desse estimulante.

Observou-se, também, aumento da excreção urinária dos 17 cetoesteróides e retenção azotada, expressão da atividade dos hormônios corticais

sexuais. Foram assinaladas algumas recidivas, uma vez cessado o tratamento, e, para evitar essa lamentável ocorrência, propõe Thorn em doses cada vez mais espaçadas o emprego do ACTH da seguinte maneira :

10 mg, cada 6 horas, na primeira semana.

10 mg, cada 8 horas, na segunda semana.

10 mg, uma vez por dia, por pouco tempo.

Procurando verificar o efeito do ACTH produzido pela atividade pituitária e não administrado diretamente no organismo, estudou Thorn a ação dos diferentes estimulantes que pudessem excitar a parte anterior da hipófise, sede da zona secretora do hormônio.

Aplicou, no homem, adrenalina ou, como preferem designar os ingleses, epinefrina, substância responsável pela deflagração das reações simpáticas da emoção, segundo mostrou Cannon, e cuja ação de estimular o sistema pituitário-adreno-cortical intacto estudara Long em animais, e viu que êsse corpo determina, na dose de 0,3 mg, um certo grau de produção de ACTH capaz de influir sobre o aumento dos esteróides suprarrenais com queda do nível dos eosinófilos circulantes, que é índice da atividade desses elementos. A ação estimulante, assim evidenciada sobre a glândula pituitária aumentando a produção do seu hormônio, realiza-se através de um mecanismo neuro-hormonal, tendo por centro a região hipotalâmica que, estimulada, reage pela secreção de um hormônio ativador da parte anterior da hipófise. Outros estímulos inespecíficos, além da adrenalina, como a própria emoção, podem pôr em jôgo todo o sistema hipotálamo-hipófise suprarrenal. O efeito dos estímulos inespecíficos, embora determinando, como faz a adrenalina, um aumento dos esteróides corticais através de uma maior produção de ACTH, não é comparável à ação terapêutica do composto E, nem do ACTH, mas talvez possa servir, como pensa Thorn, como processo coadjuvante para a continuação do tratamento.

Êsses resultados clínicos e experimentais vêm pôr em foco o papel saliente das glândulas suprarrenais na fisiologia do metabolismo orgânico e no mecanismo de várias atividades mórbidas. Já Selye, estudando o efeito repetido dos diferentes traumas, das temperaturas extremas, dos tóxicos, das queimaduras, da anoxia, da inanição, dos esforços físicos exagerados agindo como estímulo de forte tensão e determinando reações orgânicas, que os autores de língua inglesa denominam de "stress", lançou uma idéia sobre a capacidade do organismo de resistir a êsses estímulos das suprarrenais, a cuja expressão sintomatológica reacional denominou de "reação de alarme".

Ensaio objetivo de laboratório permitem supor que êste efeito de atividade suprarrenal seja produzido pelo estímulo da secreção do ACTH. A esta reação de alarme, que consta de duas fases, a de choque e a de contra-

choque, com os seus fenômenos caraterísticos, sucessivos ou entrelaçados, segue-se o período da resistência, que poderá terminar no estado de esgotamento das glândulas suprarrenais. Por êsse esgotamento se explicariam os casos de choque e de morte súbita em doentes operados e passando bem nos primeiros dias da operação, o mesmo se verificando nos indivíduos tendo sofrido grandes traumatismos, como graves queimaduras, e que, logo depois, ainda se apresentam em boas condições e até capazes de dispender grandes esforços, para depois entrarem em choque e até em morte.

A êstes estados anormais Selye, estudando em animais, descreveu como consequência do efeito dêsse "stress", agindo de modo repetido ou crônico, e denominou de "fenômenos de adaptação", ou "doenças de adaptação". Entre êsses, classifica certos tipos de hipertensão experimental, nefrite e doenças particulares, verificados nos animais em experiência.

Messel referiu-se ao efeito do hormônio na febre reumática, como já assinalou Thorn, produzindo rápida melhora de todos os fenômenos, da pericardite, da aortite e volta da área cardíaca aumentada às dimensões primitivas, com normalização do eletrocardiograma e da hemossedimentação em cerca de 10 a 15 dias. Houve regressão de todos os fenômenos mórbidos, sem as seqüelas comumente verificadas nesta moléstia.

Para o lado dos estados alérgicos, como asma, febre do feno, as comunicações de Randolf dizem respeito ao desaparecimento rápido dessas manifestações por espaço de dias ou semanas, parecendo que o hormônio bloqueia o mecanismo de hipersensibilidade quando o organismo se expõe aos alergenos. Estas observações revelam o papel que pode apresentar a ação dêsse hormônio, para a compreensão do mecanismo de reações entre antígenos e anticorpos.

Tendo-se em vista êstes resultados nas afecções alérgicas, decidiu-se experimentar o efeito hormonal que, como vimos, determina a libertação de gamas globulinas adstritas á formação de substâncias imunitárias sobre as moléstias infectuosas, onde, de modo mais evidente, são encarados os fatores relacionados com os fenômenos antígeno anti-corpos. Finland relatou caso de pneumonia lobar tratados pelo ACTH e onde não houve administração de antibióticos. Dentro de 12 a 14 horas, a temperatura baixou e surgiu uma pronunciada melhora clínica, com desaparecimento completo dos sintomas entre 36 a 48 horas, apesar da positividade das hemoculturas até após 36 horas de início do tratamento. Com a continuação da terapêutica, durante 5 dias, com doses sucessivamente decrescentes, o doente pôde ser considerado curado. O restabelecimento do paciente foi mantido mesmo após a supressão do medicamento (ACTH). Stoke e colab. relataram benéficos efeitos em casos de hepatites sub-agudas a virus.

Em síntese, do exposto patenteia-se que, na profilaxia e no trato das infecções em geral, deve-se optar pelo critério a seguir :

1 — Agir sobre o terreno, ou melhor, sobre o organismo no qual se possa instalar a infecção, estimulando suas melhores defesas contra a infecção e na cura da infecção. O melhor exemplo espelha o sucesso do ACTH e da cortisona na cura de certas moléstias infectuosas, “verbi gratia” o reumatismo poli-articular agudo, no qual a “condição terreno predisponente” representa a base a favorecer a evolução da moléstia.

2 — Agir diretamente sobre o germe pelo emprêgo da medicação específica, os antibióticos como exemplo.

3 — Agir, na impossibilidade de o fazer diretamente, indiretamente sobre o germe, pela imunização ativa (vacinas, anatoxinas), ou mesmo pela imunização passiva (soros).

Com referência ao item 1, forçoso é reconhecer, a Endocrinologia Clínica moderna nos traz precioso subsídio no sentido da melhoria do terreno, visando a defesa contra a infecção. E, assim, fatos que outrora eram tidos como dados empíricos, hoje, graças aos progressos da Medicina nesse sector, passaram à categoria das mais comprovadas verdades científicas.

Com referência aos itens 2 e 3, o nosso trabalho, calcado na experiência clínica e, inclusive, na experimentação no animal, pelo emprêgo paralelo da penicilina e da anatoxina nas estafilocócias provocadas, põe em relevo a superior ação dos métodos indiretos no combate à infecção (no caso, a anatoxina estafilocócica). Além de agir contra a infecção ativa, a anatoxina vem conferir também, ao animal em experiência, um tal ou qual grau de imunidade jamais auferido pelo uso dos antibióticos em geral.

* * *

RESUMO

Os autores fazem um estudo sobre as relações entre o terreno endocrinopático e as infecções, escolhendo, como infecção tipo, a estafilocócica.

Fizeram, também, o estudo comparativo em animais de laboratório, sob o aspecto da imunidade, entre a penicilinoterapia e o uso da anatoxina estafilocócica, concluindo pelo maior valor desta última, justamente por agir sobre o terreno e, conseqüentemente, sobre o germe.

Um resumo sobre a síndrome de adaptação de Selye mostrou a importância das suprarenais e, assim, do terreno endocrinopático nas infecções.

Concluíram, finalmente, com um apanhado da terapêutica das infecções à luz da Endocrinologia.

SUMMARY

The authors have studied the existing relationship between the endocrinological background and the infections; staphylococcal infection was chosen for this study.

A comparative study was made, in laboratory animals, on the relative efficiency of penicillin and of staphylococcal toxoid as therapeutic agents. The authors' conclusions are in favor of the latter; this is probably due to the fact that the toxoid acts primarily upon the organism enhancing its defenses against the invading microorganism.

A review on Selye's adaptation syndrome demonstrated the importance of the adrenals and, consequently, of the endocrine constitution in infections.

They conclude with a review of the therapeutical methods used in infections, taking account of the endocrinological point of view.

BIBLIOGRAFIA

- ALBRIGHT, F. e N. B. TALBOT — 1947 — The effect of trauma and disease on the urinary 17 cetosteroid excretion in man. *J. Clin. Endocrinol.* 7: 264-268.
- ALBRIGHT, F. e N. B. TALBOT — 1947 a — The excretion of 11 — oxicorticosteroid-like substances by normal and abnormal subjects. *J. Clin. Endocrinol.* 7: 331-350.
- ASHCAR, H. — 1941 — Ensaio sobre imunidade antiestafilocócica. *Mem. Inst. Butantan.* 15: 399-421.
- BARNES, B. — 1939 — Furunculosis. Etiology and treatment. *J. Clin. Endocrinol.* 3: (4): 243-244.
- BERARDINELLI, W. — Biotipologia. 3.ed. Rio de Janeiro, Francisco Alves, 1936; vol. 1.
- BEZANÇON, F. — Les tendances nosographiques actuelles et la notion de l'especificité. Paris, 1932.
- BRIQUET, R. e E. P. de MESQUITA — 1945 — Do choque. Patogenia e diagnóstico. *Hospital* 27: 717-735.
- CAMPOS, C. de MOURA — 1950 — Novas diretrizes da terapêutica. *Caderno de Terapêutica.* 1: 3-9.
- CASTRO, ALOYSIO de e J. A. de MESQUITA SAMPAIO — 1945 — O problema da hipotensão arterial. *II Congresso Médico Paulista* 1: 151-174.
- DIAS, H. ANNES — 1940 — Os problemas clínicos da insuficiência suprarrenal. *Rev. Terapêutica* 20: 5-22.
- FONSECA, J. MOREIRA da — Tuberculose e as glândulas de secreção interna. Estudos sobre doenças tropicais e infectuosas. Rio de Janeiro, Tip. do Patronato, 1935.
- FRAGA, CLEMENTINO — Clínica Médica. 2.ed. Bahia, 1928; 1: 199.
- MARAÑON, G. — Once lecciones sobre el reumatismo. Madrid, Espasa Calpe, 1934.
- MARAÑON, G. — Manual de las enfermedades endócrinas. Buenos Aires, Hachette, 1938.
- MESQUITA, EÇA PIRES de — 1944 — Estafilococias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 4: 1-181.

- PENDE, N. e A. LUZZATTO — Trattato de tubercolosi. L. Devoto, 1932 ; 5 : 239-241.
- PRADO, A. de ALMEIDA — 1949 — Amiloidose e artrite reumatóide. *Res. Clin. Cient.* 18 : 363-370.
- RASCOWSKI, ARNALDO — 1943 — Consideraciones psicomaticas sobre la evolución sexual del niño. *Rev. Psicoanálisis* 1 (2) : 182-229.
- SAMPAIO, J. A. de MESQUITA — 1944 — Fisiopatologia dos grandes queimados e sua terapêutica à luz da Endocrinologia. *S. Paulo Médico* 27 : 25-40.
- SAMPAIO, J. A. de MESQUITA — 1945 — O problema da amigdalite em patologia geral. *Rev. Paul. Med.* 26 : 1-16.
- SAMPAIO, J. A. de MESQUITA — Contribuição ao estudo das estafilococias em Higiene e Saúde Pública. São Paulo, Edigraf, 1946.
- SAMPAIO, J. A. de MESQUITA — Diabete e catarata (no prelo). Conferência realizada no Seminário Oftalmológico prof. J. Britto, da Cátedra de Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brasil, em 1950.
- SAMPAIO, J. A. de MESQUITA, J. de PAULA e SILVA, J. de MATTOS BARRETO e A. C. VICENTE de AZEVEDO — Amígdalas. Infecção focal. São Paulo, Edigraf, 1945.
- SELYE, H. — 1946 — Le syndrome général d'adaptation. *Ann. Endocrinologie* 7 : 269-401. -
- SIEGLER, S. L. — Fertility in woman. Philadelphia, Lippincott, 1944.
- STAKE, T. — 1927 — Études expérimentales sur la fièvre scarlatine. *Bull. Office Internac. Hyg. Pub.* 19 : 1627-1631.
- STEVENS, F. A. — 1927 — The occurrence of the Staphylococcus aureus infection with a scarlatiniform rash. *J. A. M. A.* 88 : 1957-1958.

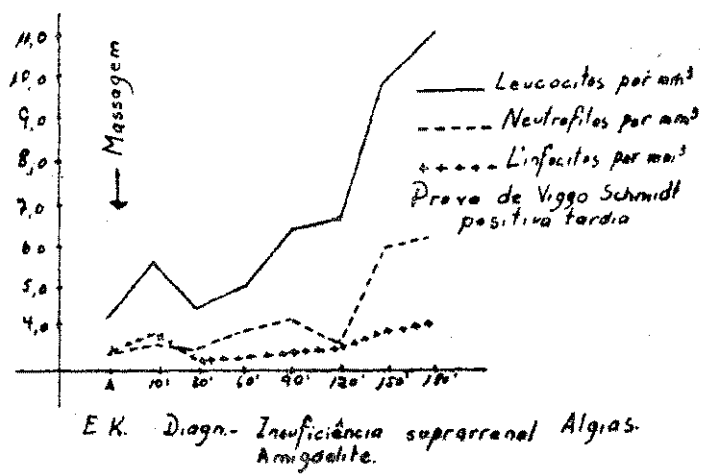


Fig. 1

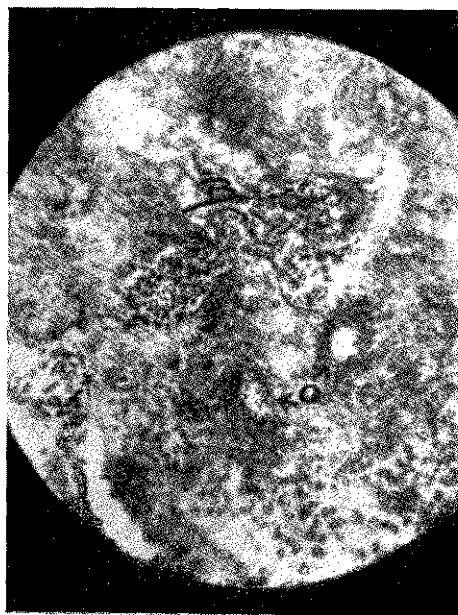
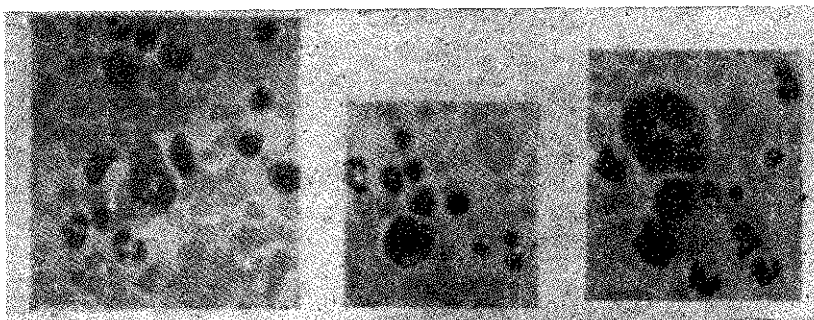


FIG. 2

Amígdala H. E. — obj. 20 oc. 7 Zeiss.

Em "a" vasos com infiltração perivascular e em "B" microabscesso.

Fig. 3 — Medula óssea na insuficiência suprarrenal (Mesquita Sampaio e Paula e Silva)
 May-Grünwald-Giemsa — obj. 90-oc. 10 Zeiss



Notar ninho de eritoblastos em nitose

Notar ninho de eritoblastos

Notar célula do S. R. E. com 4 núcleos

ESQUEMA DAS ALTERAÇÕES FUNCIONAIS MORFOLÓGICAS E METABÓLICAS DO SÍNDROMO GERAL DE ADAPTAÇÃO (SEGUNDO SELYE)

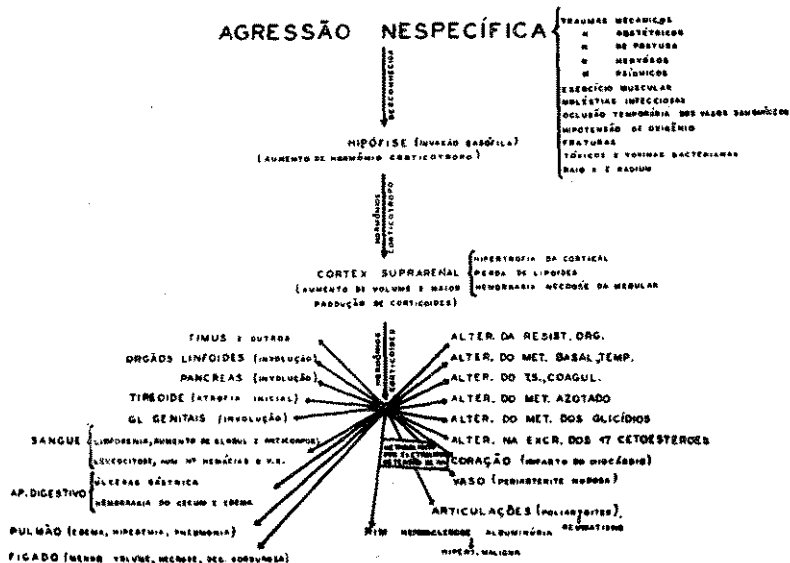


Fig. 4

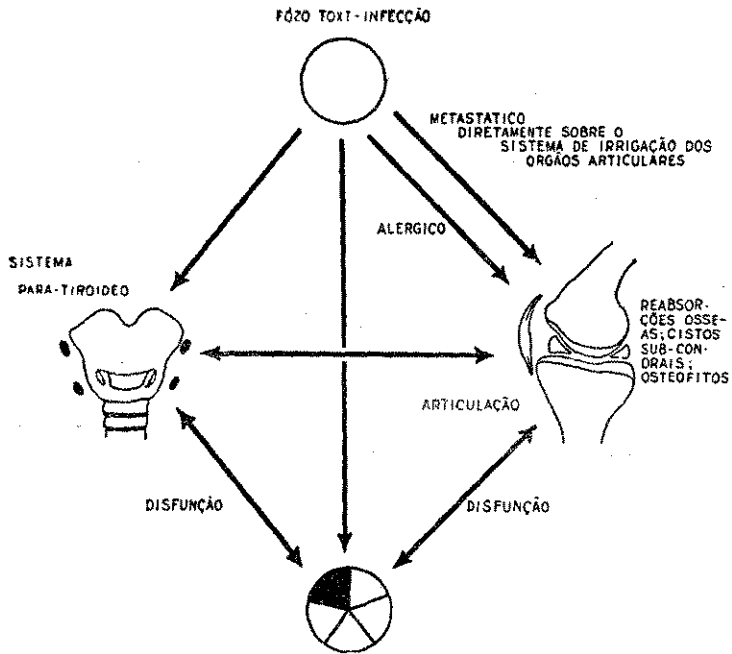


Fig. 5 — Sistema Pluri-glandular

(Apud Mesquita Sampaio Hermeto Júnior)

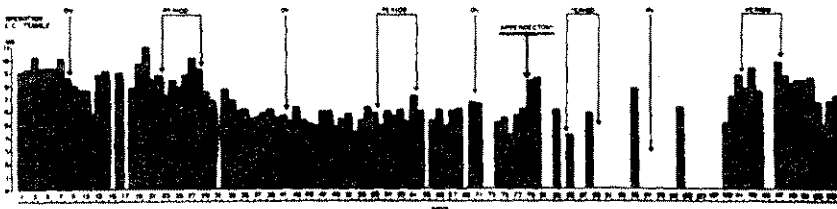


Fig. 6 — Excreção urinária dos 17 cetoesteróis em uma mulher normal, durante um episódio de apendicite aguda (Apud Albrith e colab.)

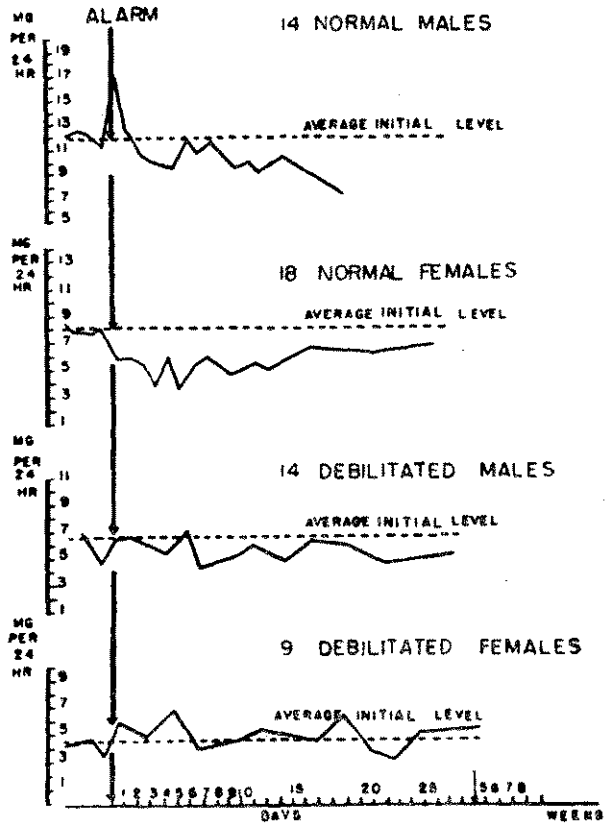


Fig. 7 — Apud Albrith e colab.

Diagnosis	Number of Patients	Range in Age yr.	Average Age	Range in 17-Ketosteroid mg./24 hr.	Average Ketosteroid mg./24 hr.
A. Males					
Malignancy (incl. prostate)	24	55-85	70	3.7-22.0	6.7
Sprue; Diarrhea	3	16-31	24	1.8- 2.9	2.3
Malnutrition; Anorexia	6	26-70	42	2.1- 7.6	4.5
Thyrotoxicosis	2	35-58	47	5.1- 5.3	5.2
Diabetes	6	15-71	45	1.8- 6.6	4.6
Hypertension	3	45-48	46	2.8-13.5	8.2
Rheumatic Disease	7	20-66	46	2.7-11.5	7.5
Other diseases	31	16-71	39	1.8-15.9	6.6
Total or Average	82		44		6.2
B. Females					
Malignancy	5	15-70	48	1.5- 4.7	2.7
Sprue; Diarrhea	9	20-50	32	0.5- 8.3	3.3
Malnutrition; Anorexia	27	15-44	29	2.0-11.5	4.9
Thyrotoxicosis	17	18-60	44	1.3-17.3	5.1
Diabetes	9	28-68	55	2.4- 7.5	5.1
Hypertension	8	17-50	41	1.3- 5.3	2.7
Rheumatic Disease	12	16-48	31	1.2- 7.8	4.5
Other diseases	27	16-71	36	1.2- 9.5	4.2
Total or Average	114		37		4.4

Fig. 8 — Eliminação urinária dos 17 cetoesteróis em 196 pacientes de moléstias crônicas (Apud Albrith e colab.)

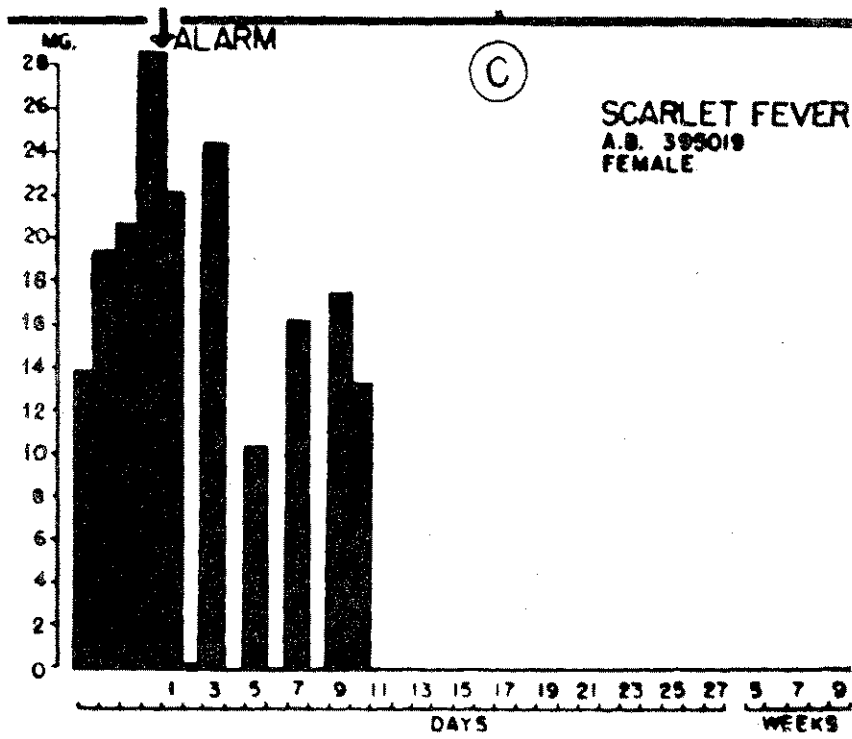


Fig. 9 — Apud Albrith e colab

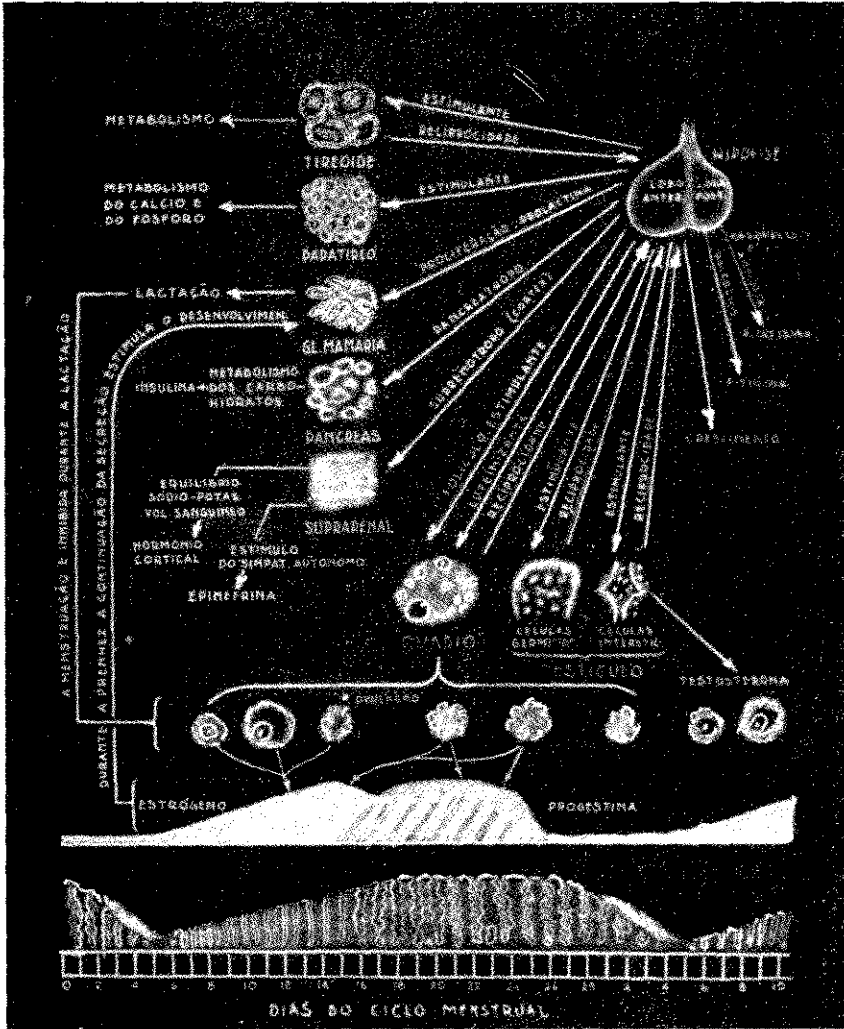


Fig. 10

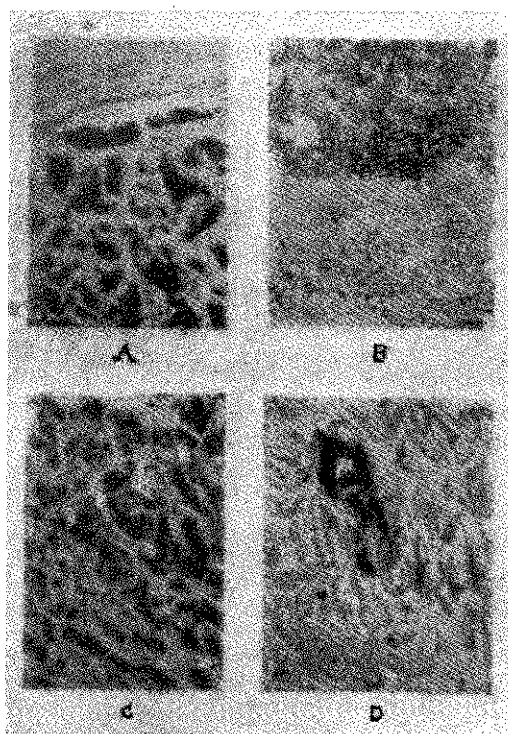


Fig. 11 — Microfotografias :
A, suprarrenal; B, baço; C, fígado; D, rim; demonstram
haver um quadro único e típico de inflamação serosa (Apud
e Motta Maia.)

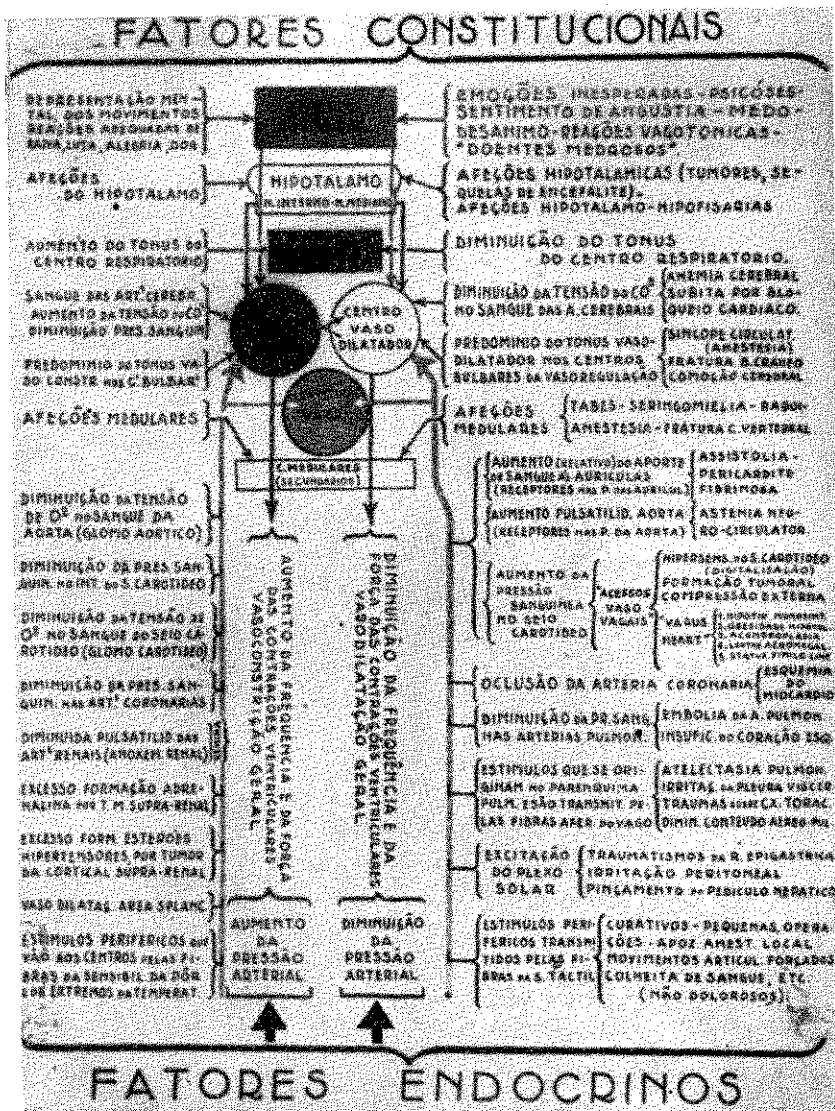


Fig. 12 — Fatores endócrinos — constitucionais modificadores da pressão arterial (Apud Aloysio de Castro e Mesquita Sampaio).

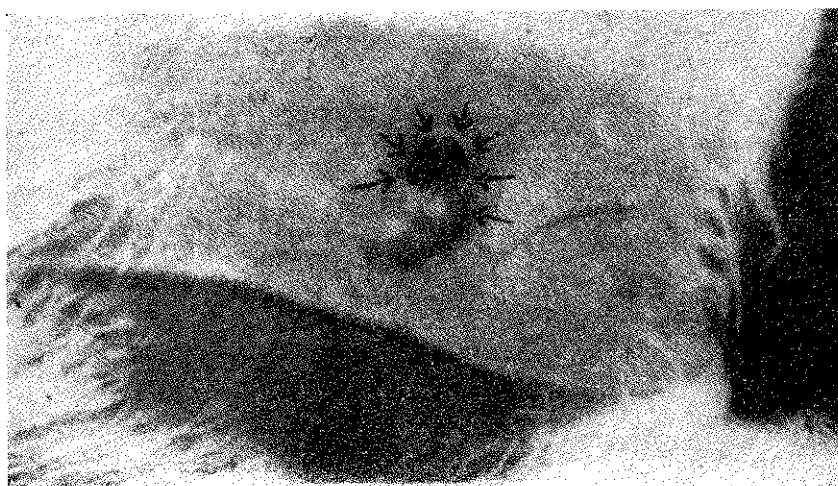


Fig. 15 — Zona de necrose produzida, no abdomen de um coelho em experiência, no ponto inoculado por estafilococo.

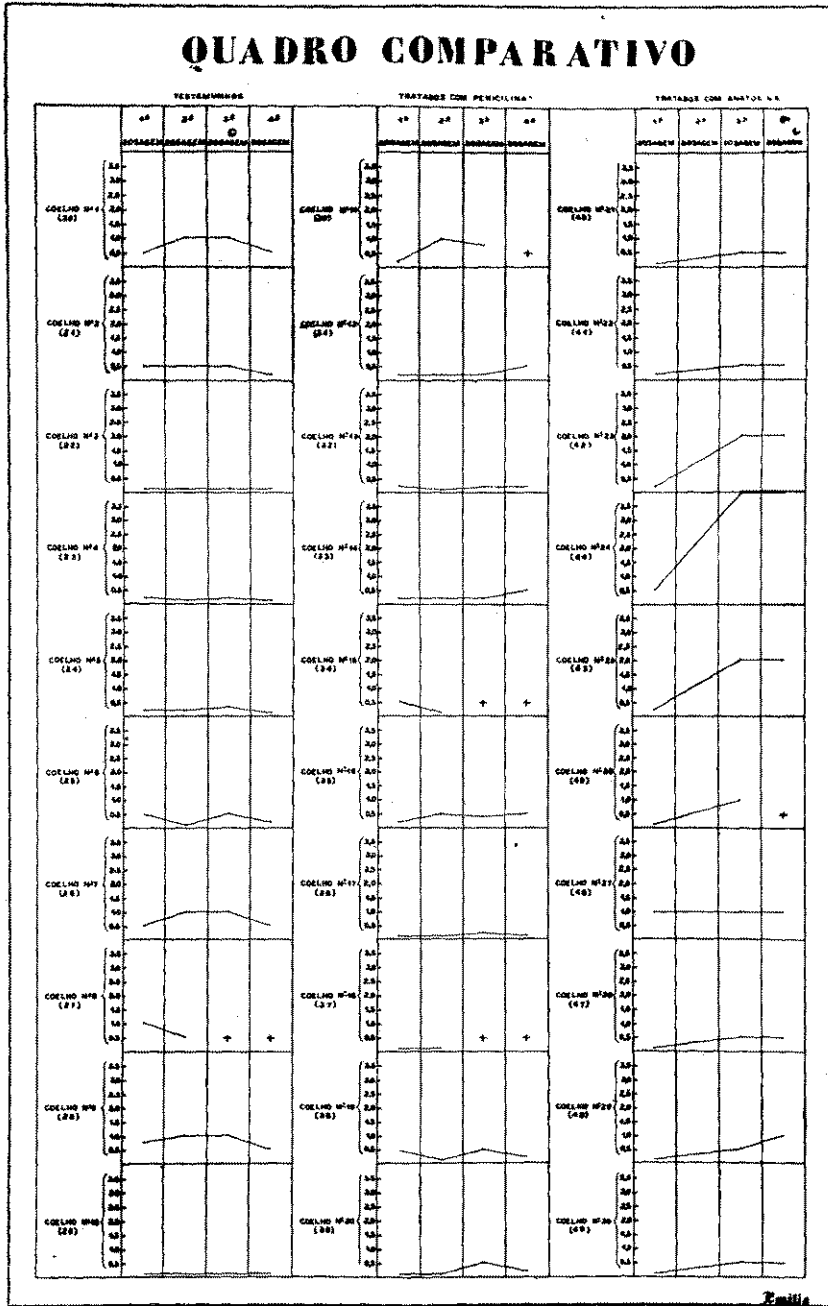


Fig. 16



SÔBRE O USO DE *RHIZOPUS NIGRICANS* EM TESTES BIOLÓGICOS

NOTA PRÉVIA

por

JORDANO MANIERO

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

Em nota anterior (x), o autor descreveu uma experiência em que se pode observar o efeito do movimento browniano pelo desvio da linha vertical de queda, com esporos livres no espaço. O aparelho consistia em um frasco de Erlenmeyer com meio de cultura sólido, no fundo, e de um tubo com Sabouraud inclinado, preso ao frasco com algodão, como se vê na figura 1.

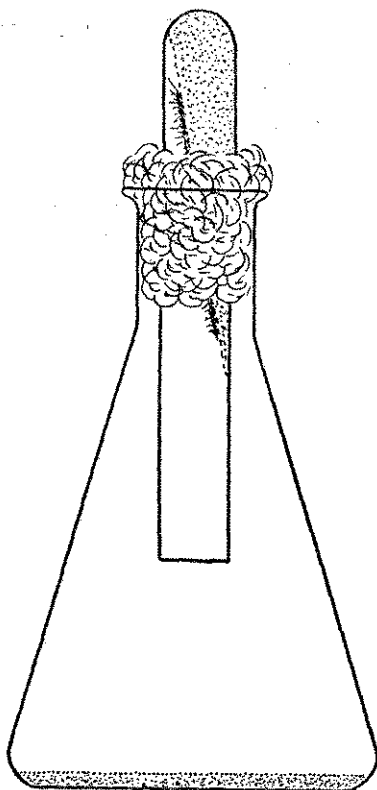


Fig. 1 — Aparêlho usado em experiências sobre a propagação de cogumelos.

Entregue para publicação em 30 de setembro de 1952.

(x) Observação do movimento browniano sem auxílio do microscópio. *Cultus* 2 (6) : 15, 1950.

Fazendo experiência com o mesmo aparelho com diferentes espécies de cogumelos, o autor notou que, quando se semeia *Aspergillus* no tubo, cêrca de quatro dias depois aparecem pequenas colônias do mesmo, espalhadas pela superfície inferior do frasco. Quando se inocula *Rhizopus*, em lugar de *Aspergillus*, nota-se que o fungo cultivado na parte superior do aparelho não se propaga na parte inferior, mesmo depois de passados muitos dias. Naturalmente, caíam muitos esporos, os quais, por um motivo qualquer, deixaram de germinar. Com o repetir das experiências, foi notado que, quando o meio de cultura do frasco era contaminado acidentalmente por *Aspergillus*, os esporos voltavam a crescer.

É fato conhecido que esporos isolados de *Rhizopus* não vingam. Em nossas experiências, os esporos que caíam em meio esteril eram muitos, mas todos isolados um do outro e, portanto, não cresciam pelo mesmo motivo. Havia uma insuficiência, no meio de cultura, que não permitia o desenvolvimento dos esporos e que outra cultura naturalmente vinha suprir.

Quando se inoculam bactérias em lugar de *Aspergillus*, nota-se um curioso fenômeno: a cultura de *Rhizopus* contamina o meio inferior, mas não por meio de esporos. Neste caso, são os micélios que se alongam até alcançar a colônia de bactérias, às vêzes separada por 3 ou 4 centímetros, propagando-se, depois, por todo o meio.

Com os novos dados sôbre a biologia dêste cogumelo, serão estudadas, oportunamente, possibilidades de aplicação do mesmo em testes biológicos.

STUDIO DI DUE CEPPI DI LEPTOSPIRE ACQUICOLE ISOLATE IN ARGENTINA ED IN BRASILE.

BRENO BABUDIERI

*Del Instituto Superiore di Sanità — Laboratório
di Microbiologia — Roma*

È noto che nelle raccolte di acque che presentino determinate condizioni ambientali, prima fra queste una reazione neutra o debilmente alcalina, è facile trovare leptospire inocue, morfologicamente non distinguibili da quelle patogene.

Queste leptospire acquicole sono state ripetutamente oggetto di osservazioni e di ricerche, specie per il sospetto che esse fossero in grado, passando attraverso l'organismo del topo o del ratto, di assumere caratteristiche di patogenicità. Dimostratasi successivamente insostenibile questa ipotesi, l'interesse dei ricercatori si rivolse particolarmente allo studio delle caratteristiche serologiche dei vari ceppi isolati. Mentre alcuni studiosi ritenevano che le varietà serologiche delle leptospire acquicole fossero pressoché infinite, altri invece, sia pure in base a ricerche limitate, riuscirono a dimostrare l'esistenza di affinità alle volte discretamente strette, fra ceppi isolati in località e in momenti diversi. In genere, però, tali affinità, si sono rivelate fra ceppi isolati in località poco distanti fra di loro ed esse, sono di conseguenza facilmente spiegabili.

Ne fa eccezione un reperto di BESSEMANS e coll., i quali constatarono l'esistenza di una certa affinità serologica, non molto spiccata però; fra un ceppo isolato a Friburgo ed un altro proveniente da Tokio (1). Per più ampie notizie su questo argomento rimando ad un lavoro pubblicato, anni or sono, da me e da ARCHETTI (2). In tale lavoro sono esposti anche i risultati delle nostre ricerche eseguiti su 34 ceppi acquicoli, in buona parte isolati da noi stessi in varie località italiane.

Le nostre ricerche ci permisero di affermare che le leptospire acquicole sono costituite da un mosaico di antigeni completi e parziali, estremamente complesso. Tuttavia alcuni di questi antigeni si ritrovano con discreta frequenza in più ceppi di leptospire, sì da permetterne una prima, sia pure grossolana, suddivisione in gruppi. Abbiamo così distinto 4 gruppi principali, caratterizzati ciascuno dalla presenza di un antigene comune. Altri ceppi hanno invece dimostrato una completa autonomia serologica.

Per quanto riguarda i rapporti fra affinità serologica e località di provenienza, occorre osservare che sono state isolate anche nella stessa città

e perfino dallo stesso campione d'acqua ceppi di leptospire che non possedevano tra di loro alcuna parentela serologica. D'altra parte, un ceppo olandese s'è dimostrato strettamente affine con ceppi romani; e del pari un ceppo isolato a Trieste è risultato molto simile ad un altro gruppo di ceppi romani.

Nel corso di un viaggio compiuto l'anno scorso in Argentina ed in Brasile, ho prelevato, in varie località, campioni di acqua, da cui ho successivamente tentato di isolare ceppi di leptospire acquicole. Le culture sono state allestite in terreno di Zuelzer semisolido e, qualora in esso si fosse osservato sviluppo di leptospire, queste sono state isolate per mezzo della filtrazione attraverso i filtri Seitz E. K.

Con questo sistema m'è stato possibile d'isolare due ceppi di leptospire, e più precisamente uno dalla vasca di una fontana situata nella Plaza de Mayo di Buenos Aires (ceppo Buenos Aires) ed uno dall'acqua potabile prelevata da un rubinetto dell'areoporto civile di San Paulo (ceppo San Paulo).

L'isolamento di ceppi di leptospire acquicole nell'America Meridionale non è cosa nuova. Già nel 1930, DE ARAUJO aveva isolato da ruscelli in prossimità di Bahia, due ceppi di leptospire (3). Leptospire acquicole sono state pure osservate da SAVINO, in Argentina (4). In nessun caso però, a quanto mi consta, esse sono state oggetto di studio serologico.

Con i due ceppi isolati, inoculati ripetutamente al coniglio, ho preparato gli immunsieri corrispondenti che ho saggiato successivamente sui ceppi di leptospire acquicole della mia collezione. I ceppi sperimentati sono stati i seguenti:

Ceppi italiani: AM3, AM6, AM8, AM12, AM13, AM20, ARI4, ARI7, ARI8, Fons, Tiburtina 2, Patoc 1, Z. A., Nomentano 1, Sacra 2, Peschiera 1, Peschiera 2, Ancona porto, Aurisina, Dindio.

Ceppi olandesi: Wa Z Holland, Wa Gent

Ceppi Belgi: M Bessemans

Ceppi francesi: Vinzent

Ceppi spagnuoli: Siviglia

Ceppi jugoslavi: Spalato mare

Ceppi indonesiani: Parapatan

Il siero preparato con il ceppo Buenos Aires (Tit. 1:50.000) ha agglutinato soltanto, fino al titolo di 1:100, i seguenti ceppi: Tiburtino 2, AM 6, AM20. Il ceppo Fons è stato invece agglutinato fino al titolo di 1:1.000. In complesso il ceppo Buenos Aires mostra scarse affinità con i ceppi studiati e può considerarsi come autonomo.

Il siero preparato con il ceppo San Paulo (Tit. 1:100.000) ha dato invece risultati più interessanti. Esso ha agglutinato a titoli trascurabili (1:50 — 1:500) i seguenti ceppi: Buenos Aires, Siviglia, Fons, Peschiera 2, Parapatan. Il ceppo Wa Z Holland è stato agglutinato ad un titolo maggiore (1:1000), ma tuttavia non tale da meritare particolare considerazione. Invece il ceppo Patoc 1 è stato agglutinato a metà titolo (1:50.000), mostrando così di possedere un'affinità molto stretta con il ceppo San Paulo.

Il ceppo Patoc 1 è stato da me isolato nel 1941 dall'acqua di un ruscello alla periferia della città di Trieste. Esso non mostra un'evidente affinità serologica con le altre leptospire della collezione.

Dati i risultati ottenuti in queste prove orientative, ho voluto studiare più a fondo i rapporti intercorrenti fra i due ceppi, impiegando per ciò la tecnica dell'adsorbimento degli anticorpi, applicata con le modalità abituali. I risultati sono stati i seguenti:

Sieri	Ceppi	
	San Paulo	Patoc 1
San Paulo	1:100.000	1:50.000 ($\frac{1}{2}$ T) (+)
„ „ „ (T 1:300) ads. con San Paulo	0	0
„ „ „ „ „ „ „ „ Patoc 1	1:100	0
Patoc 1	1:75.000 (1,5 T)	1:50.000
„ (T 1:300) ads. con Patoc 1	0	0
„ „ „ „ „ „ „ „ San Paulo	0	0

Queste prove, mentre da un lato confermano l'esistenza di una stretta affinità fra i due ceppi, d'altra parte ci dimostrano che i due ceppi non sono serologicamente identici. Infatti mentre il ceppo Patoc 1 possiede soltanto l'antigene comune con il ceppo San Paulo, quest'ultimo possiede ancora un altro antigene diverso da questo. Così si spiega come il ceppo San Paulo sia in grado di saturare completamente il siero anti-Patoc 1, mentre il ceppo Patoc 1 non è in grado di fare altrettanto con il siero anti-San Paulo. Si avvera qui un fenomeno che è ben noto anche nel campo delle leptospire patogene, quello cioè che caratterizza l'esistenza dei (+) T = titolo cosiddetti "biotipi" o "subtipi" (5).

Nel nostro caso il ceppo San Paulo dev'essere considerato come il biotipo completo (corredo antigenico = AR) e quello Patoc 1 come il bio-

tipo incompleto (corredo antigenico = A) del medesimo tipo serologico.

L'interesse principale di queste ricerche sta nella constatazione che è stato qui per la prima volta possibile isolare due ceppi di leptospire acquicole appartenenti allo stesso tipo serologico, dall'acqua di due città lontanissime, quali San Paulo e Trieste. Bisogna di conseguenza ritenere che, così come ormai s'è constatato avvenire per le diverse specie di leptospire patogene, anche quelle acquicole conservino inalterata la loro individualità serologica, attraverso tutte le complesse peripezie che esse possono incontrare nella lunga migrazione da una località ad un'altra molto lontana e, senza essere in ciò sensibilmente influenzate da diversità di ambienti, di climi, di rapporti.

Cade così anche per le leptospire acquicole, come è già avvenuto per quelle patogene, il concetto di "specie locali" contrapposto a quello di "specie a diffusione universale".

Tenuta per ferma l'esistenza fra le leptospire acquicole, di un numero, sia pure grande però finito, di specie serologiche, e confermata, entro i limiti che questo concetto può avere in biologia, l'immutabilità dell'individualità serologica di queste diverse specie, non deve più meravigliare il reperto di ceppi strettamente affini, in Continenti lontani. Occorre considerarli come membri di un'unica famiglia, che sono migrati attraverso lunghe e complesse vie, allontanandosi dal loro comune centro d'origine.

RIASSUNTO

L'autore isola in cultura pura due ceppi di leptospire acquicole: l'uno da una vasca della città di Buenos Aires, l'altro dall'acqua potabile della città di San Paulo. Mentre il primo ceppo non possiede evidenti affinità serologiche con altri ceppi di leptospire europee ed asiatiche, il secondo risulta strettamente affine con un ceppo isolato presso la città di Trieste. Ciò dimostra che anche nelle leptospire acquicole esiste un'individualità serologica che si può ritrovare in ceppi isolati in località tra di loro molto lontane.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — BESSEMANS, A., P. WITTEBOLLE e R. DEVUYOT — *Rev. Belge Sc. Méd.* 11 : 275, 1939.
- 2 — BABUDIERI, B. e I. ARCHETTI — *Rend. Inst. Sup. Sanità* 10 : 962, 1947 e *Ann. Inst. Pasteur* 75 : 552, 1948.
- 3 — ARAUJO, E. de — *Brasil Médico* 44 : 1.386, 1940.
- 4 — SAVINO, E. — Comunicazione verbale.
- 5 — BORG PETERSEN, C. — *Acta Conv. Tert. de Trop. Morbis* 1 : 396, 1938.

CONTRIBUIÇÃO DO LABORATÓRIO REGIONAL DE SANTOS NA EPIDEMIOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE *MANSONI* EM SANTOS

por

S. A. LEÃO DE MOURA

Médico - Chefe do Laboratório Regional de Santos

Últimamente muito se tem falado e escrito a respeito da esquistossomose *mansoni* em Santos, mas vale a pena recordar o que tem sido feito no sentido de se avaliar a extensão desta doença entre nós.

ARANTES (1923 e 1923-1924) estudou o primeiro foco de esquistossomose *mansoni* em Santos, no Marapé, no qual encontrou onze pessoas que expeliam, com as fezes, ovos de *Schistosoma mansoni* e que residiam nas proximidades de uma lagoa na qual foram encontrados moluscos classificados pelo Dr. Arantes como *Planorbis centimetralis*, opinião esta confirmada por Adolfo Lutz.

Medicadas as pessoas infestadas e aterrada a coleção d'água, foi o foco extinto.

Posteriormente, coube ao Prof. GONZALES TORRES (1940) apresentar à Associação Paulista de Medicina, em 1939, um trabalho "sôbre um caso de Schistosomose autoctone de Santos. — Apendicite por *Schistosoma mansoni*", referente a um doente que residia no bairro de Santa Maria, onde mais tarde iríamos constatar a existência de mais casos desta enfermidade.

Em 1940 e 1941, fizemos uma investigação concernente à "Incidência das parasitoses nos escolares de Santos (MOURA, 1942), durante a qual examinamos as fezes de 100 alunos de cada um dos 5 grupos escolares municipais existentes naquela época e localizados: o "Auxiliadora da Instrução", no centro da Cidade, na Rua Sete de Setembro, esquina de Braz Cubas; o "Cidade de Santos", no Macuco; o "Lourdes" Ortiz", na Ponta da Praia, próximo ao canal 6; o "Martins Fontes", no Saboó e o "Olavo Bilac", no Marapé.

Dentre as 500 amostras examinadas, 2 (0,4%) apresentavam ovos de *Schistosoma mansoni*.

No primeiro trimestre de 1945, examinamos, em nosso laboratório particular, as fezes de um rapaz que se queixava de forte disenteria com intenso tenesmo e eliminação de fezes com grande quantidade de muco,

* Trabalho apresentado à Secção do dia 25 de novembro de 1952 do Departamento de Higiene e Moléstias Tropicais da Associação dos Médicos de Santos e entregue para publicação em 16 de janeiro de 1953.

pus e sangue e constatamos o maior número de ovos de *Schistosoma mansoni* visto por nós : havia 6 a 7 ovos com espículo lateral em quase todos os campos microscópicos. O paciente residia no Caminho do Matadouro, no Saboó, onde trabalhava como chacareiro.

Já nos encontrávamos, nesta época, na chefia do Laboratório Regional de Santos do Instituto Adolfo Lutz e resolvemos investigar a extensão da doença de Manson-Pirajá da Silva em Santos, iniciando a nossa tarefa no bairro do Saboó.

Iniciava-se, aí, a contribuição dêste laboratório regional no estudo epidemiológico desta doença.

Com a cooperação devotada de funcionários desta Repartição, foi feito o cadastro dos moradores desta zona, foram distribuídas, simultaneamente, latas para a colheita de fezes, as quais eram coletadas pelos referidos funcionários e levadas ao Laboratório Regional, onde se procedia a rigoroso exame parasitológico.

Em 1.126 amostras examinadas, foram encontradas 103 positivas para ovos de *Schistosoma mansoni* (9,14%).

Consignamos, em nosso trabalho sôbre a "Schistosomose mansoni autoctone em Santos" (MOURA, 1945): "O número de casos positivos deverá ser muito maior do que o encontrado por nós, ao exame de uma só amostra de fezes de cada pessoa, pois nem sempre são encontrados os ovos dêste trematódio nas pessoas parasitadas por êle, asseverando Heraldo Maciel que há forte influência mesológica na eliminação de maior ou menor número de ovos, afirmando J. Valência Parpacéu que, em estudos feitos na Venezuela, em certos casos houve necessidade de fazer 9 exames de cada pessoa para encontrar o ovo procurado".

E razão tínhamos nós. Com o prosseguimento das pesquisas, em Santos, comprovou-se que o número de pessoas infestadas era muito maior, não só no Saboó, como em outros pontos desta Cidade.

Terminamos essa nossa comunicação com as seguintes conclusões :

1.º Urge enfrentar, com energia e segurança, o problema da extinção do foco de esquistossomose *mansoni* em Santos, promovendo :

a) a destruição de sentinas que se lançam diretamente nas valas de irrigação e de plantio de agrião ;

b) a construção de latrinas higiênicas, dotadas de fossas cujas águas do afluente tenham destino conveniente ;

c) enérgica fiscalização junto aos pequenos agricultores, impedindo o nocivo emprêgo do adubo humano em suas plantações ;

d) a captação da água que se infiltra dos morros circunjacentes, tratando-a de modo a tornar impossível a proliferação dos caramujos do gênero *Australorbis* ;

e) a distribuição de água do abastecimento da cidade à população da zona atingida ;

f) o tratamento dos indivíduos infestados e

g) a proibição do plantio de agrião (*Nasturtium officinale* — R. Br) enquanto perdurarem as condições atuais, propícias à disseminação da doença.

2.º) Para a fiscalização da execução das medidas acima apontadas e tratamento dos infestados, poderá ser aproveitado o chalet de madeira onde funcionava a Escola Japoneza e que está localizado no meio do foco, para funcionamento de um Pôsto Sanitário.

3.º) Este Pôsto Sanitário deverá ser dirigido por um médico que se interesse pela assistência efetiva dos enfermeiros, o qual deverá contar com a colaboração de pessoal habilitado : microscopista, guardas, enfermeiros, etc.

4.º) Com a cooperação do Departamento de Saúde do Estado e da Prefeitura Municipal, será possível suprimir o foco que encontramos, como oi extinto o descoberto por Antônio Arantes, no bairro do Marapé.

É de justiça que façamos, aqui, um parêntesis para ressaltar a ênfase dada ao problema da esquistossomose *mansoni* em Santos pelo Dr. Lincoln Feliciano, quando exerceu o cargo de Prefeito Municipal, na época em que divulgamos os estudos realizados no Saboó.

Por convocação sua, as mais altas autoridades do Departamento de Saúde, da Delegacia e do Centro de Saúde, da Repartição do Saneamento, da Prefeitura, do Laboratório Regional e da Companhia City visitaram o bairro do Saboó, constatando, in loco, as suas precárias condições.

Aí foram traçadas as primeiras normas para o combate àquela doença e de S. S. partiram as primeiras providências de saneamento, a melhoria das vias de acesso ao Pôsto que se inaugurava pouco depois, da instalação de torneiras para abastecimento de água potável à população daquela zona, a idéia da construção dos fornos crematórios para lixo, do estudo da drenagem da água de infiltração a ser executado pela Repartição de Saneamento, etc.

Vindo a Santos o Professor Cesar Pinto, assistente do Instituto Oswaldo Cruz e reconhecida autoridade em Parasitologia, mormente em Schisomose, quis o Sr. Prefeito Lincoln Feliciano demonstrar ainda mais o seu interesse pelo assunto, convidando o ilustre professor para realizar uma Conferência pública na Prefeitura, para a qual foram convidados especialmente os professores e as professoras de nossa cidade.

Estamos certos de que, se as providências aventadas então tivessem sido executadas, hoje poderíamos nos regosijar com a extinção do foco do Saboó, o mais intenso encontrado, até agora, entre nós.

Em 1948, o Dr. Zelnor Paiva Magalhães, médico do Laboratório Regional de Santos do Instituto Adolfo Lutz, apresentou à Associação dos Médicos de Santos uma interessante contribuição intitulada "Esquistosomiase mansoni". Novo foco em Santos (MAGALHÃES, 1949), no qual descreveu a descoberta de um novo foco desta parasitose em nossa cidade, localizado no bairro do Jabaquara.

Paiva Magalhães, partindo da observação de um menino de 13 anos de idade, residente à rua Rangel Pestana, naquele bairro, e em cujas fezes foram encontrados ovos de *Schistosoma mansoni*, chegou à conclusão de que, no Jabaquara, existia mais um foco autoctone da doença de Manson Pirajá da Silva, depois de examinar as fezes de 775 pessoas aí residentes, entre as quais encontrou 37 casos positivos (4,77%).

Nesta época, já estava em funcionamento o Pôsto de Profilaxia e Tratamento da Esquistosomiase, do Saboó, inaugurado em 24 de novembro de 1945.

Ao ser informado pelo Dr. Paiva Magalhães da existência do novo foco, o Dr. Nicolino Falci, médico chefe daquele pôsto, tomou as necessárias providências, intimando os chacareiros a retirar as latrinas existentes na zona das plantações (o aspecto dêste foco era muito semelhante ao do Saboó e aí também o adubo humano era largamente empregado), proibindo o plantio de agrião enquanto as condições higiênicas não fossem melhoradas, promovendo a limpeza das valas e o atêrro das zonas alagadiças, etc.

Em 1949, realizamos exames parasitológicos em 2.050 amostras de fezes de crianças que freqüentavam os grupos escolares e os parques infantis da Prefeitura e constatamos, em 14 delas (0,68%), a presença de ovos de *Schistosoma mansoni*. Assinalamos, no relatório que apresentamos ao Dr. Clovis de Lacerda, diretor do Departamento de Assistência Médico-Escolar, o nosso achado, esclarecendo que havíamos observado a existência desses ovos, não só em crianças do Grupo Escolar Martins Fontes, do Saboó, mas em outras que freqüentavam o Parque Infantil D. Olívia Fernandes e os Grupos Escolares Cidade de Santos e Lourdes Ortiz, situados no Macuco os dois primeiros e o último na Ponta da Praia.

Procedemos a investigações sôbre 3 destes casos e obtivemos os seguintes dados, já divulgados em trabalho anterior apresentado a esta Associação, em 1950 :

R. J. O. — do sexo masculino, de 10 anos de idade, de côr branca, morador à rua Ministro Waldemar Falcão, pequena travessa da rua Frei Francisco Sampaio ;

A. P. — do sexo feminino, de 8 anos de idade, de côr preta, residente numa das casas populares da praça Joaquim Moutinho e

J. N. — do sexo masculino, de 10 anos de idade, de côr branca, morador à rua Bernardo Browne, nas proximidades da rua da Liberdade.

Nenhuma destas crianças havia residido nem no Saboó nem no Jabaquara. Soubemos que os locais prediletos para seus folguedos eram as valas próximas, onde pescavam peixinhos e onde havia grande quantidade de caramujos do gênero *Australorbis*, conforme constatamos.

Próximo à vala onde uma destas crianças gostava de brincar, à rua Aureliano Coutinho, havia, na ocasião, uma obra em início, onde trabalhavam operários vindos há pouco do Estado de Sergipe, onde a esquistossomose alcança altos índices de infestação, não havendo, no local, instalações sanitárias, por mais rudimentares que fôsem.

Desde esta época, vimos nos impressionando com o fato de estarem sendo empregados, nas construções civis e na abertura de novas estradas, indivíduos provenientes de regiões do país onde a situação econômica é das mais precárias, justamente onde a esquistossomose é mais disseminada (Nordeste, Sergipe, Alagoas, Bahia e Minas Gerais).

A maioria destes operários, serventes e vigias de obras, reside em barracões desprovidos de qualquer conforto, inclusive de instalações sanitárias e as dejeções são freqüentemente lançadas no chão ou em precaríssimas fossas negras, em geral em conexão com as valas onde proliferam os caramujos.

Temos a impressão de que estes indivíduos desempenham papel preponderante na disseminação da doença, mormente pela vida nômade que levam, trabalhando ora aqui, ora acolá, embora sempre nas piores condições higiênicas.

Em tôdas as valas em que as crianças acima citadas brincavam e onde certamente se infestaram, havia caramujos do gênero *Australorbis*, ocorrendo o mesmo nas ruas Frei Francisco Sampaio, Ministro João Mendes, Vergueiro Steidel, Álvaro Alvim, hoje quase tôdas calçadas, com galerias de esgôto e de águas pluviais, em certos trechos da avenida Epitácio Pessoa e nas avenidas Pedro Lessa, Afonso Pena, Siqueira Campos e Joaquim Montenegro e nas ruas 1.º de maio, Guaimbê, Piratininga, nas imediações do Grupo Escolar Lourdes Ortiz, etc.

Sabedor de nossas investigações, o Sr. Rubens Ferreira Martins, então Prefeito de Santos, acompanhou-nos numa visita aos locais anteriormente referidos e o que S. S. constatou foi tão impressionante que S. S. resolveu convocar uma reunião, em seu gabinete, das pessoas mais interessadas na solução do grave problema da esquistossomose. Em valas onde a quantidade de caramujos era de estarrecer, muitas crianças brincavam descuidadamente, com as pernas mergulhadas na água, pegando peixinhos e os próprios caramujos, com latas perfuradas, peneiras improvisadas, etc.

Na reunião promovida pelo Sr. Prefeito Municipal, o assunto foi debatido com serenidade e franqueza e aí foi escolhida a "Comissão para es-

tudo e combate à esquistossomose”, que foi constituída pelos Drs. Eduardo Barreto de Souza, médico-chefe interino do Centro de Saúde Martins Fontes ; João dos Santos Marques, diretor em exercício da Repartição do Saneamento de Santos ; Otávio Cavalheiro, engenheiro da Divisão de Obras Públicas da Prefeitura ; Alarico Silveira, chefe do Departamento Médico da Prefeitura ; Hyder Freire Pereira, engenheiro agrônomo do Instituto Biológico, destacado no Serviço de Defeza Vegetal do Ministério da Agricultura ; Lineu Ibayára Gonçalves, engenheiro agrônomo do Ministério da Agricultura e Leão de Moura, médico e chefe do Laboratório Regional de Santos do Instituto Adolfo Lutz.

Uma semana após, foi esta Comissão acrescida dos Drs. David Côda, do Serviço de Profilaxia da Malária, e Paulo Augusto de Azevedo Antunes, do Centro de Saúde Martins Fontes.

O Sr. Prefeito Municipal, sabedor da ação moluscocida da cal, determinou o emprêgo desta substância nas valas da rua Alvaro Alvim e, no dia seguinte, verificou-se que a letalidade do caramujos havia sido de 100% e que o pH da água da vala tinha passado de 7,2, antes da aplicação, para 9,2, vinte e quatro horas depois.

A comissão passou a se reunir semanalmente e a cada membro foi cometida uma tarefa, de acôrdo com a especialidade de cada qual.

Tendo os engenheiros agrônomos Hyder Pereira e Lineu Gonçalves obtido excelentes resultados com o emprêgo da rotenona como planorbicida, na proporção de 10 p. p., foi o primeiro incumbido de averiguar o preço desta substância e, baseada nestas informações, a comissão se entendeu com o Sr. Prefeito Rubens Ferreira Martins, que houve por bem enviar uma mensagem à Camara Municipal, solicitando a abertura de um crédito para a aquisição dêste moluscocida.

O Dr. David Côda, fazendo o levantamento das valas de S. Vicente, Santos e Guarujá, constatou, na primeira destas cidades, quantidade enorme de caramujos, não só nas valas, como em várias sargetas da rua e o Dr. Eduardo Barreto de Souza comunicou haver encontrado muitos dêstes moluscos em Conceição de Itanhaem. Em todos os bairros de Santos, constatou-se a existência de *Australorbis*, nas valas e canais, motivo pelo qual a comissão resolveu intensificar os seus trabalhos e convocou para uma “Mesa Redonda”, a ser realizada na séde da Associação de Engenheiros de Santos, os médicos e engenheiros com assento na Câmara Municipal, afim de serem aí debatidos os vários aspectos da luta contra a esquistossomose, mas, infelizmente, dos Srs. vereadores convidados, só compareceu o Dr. Antônio Arantes, que, inteirado das atividades desenvolvidas pela comissão, deu à Camara Municipal as suas impressões.

O Dr. David Côda, dos mais eficientes membros da comissão, organizou mapas de Santos, S. Vicente e Guarujá, com localização das valas inspe-

cionadas pelos funcionários do Serviço de Profilaxia da Malária treinados em pesquisas semelhantes e apresentou um interessante relatório sobre o serviço executado, do qual extraímos o seguinte resumo :

Em SANTOS

Pesquisas realizadas em :

a) Quarteirões 607 b) Morros 5 c) Lagôa 1

	N.º	%	Metragem
1.º) Quarteiros c/ valas c/ caramujos ...	126	20,8	54.180 metros
2.º) Quarteirões c/valas e caramujos e c/ extravasamento de fossas	43	7,0	18.490 "
3.º) Quarteirões c/valas e c/extravasamento de fossas , mas sem caramujos...	91	14,0	39.130 "
4.º) Quarteirões c/valas secas	65	10,8	27.930 "
5.º) Quarteirões com valas, sem caramujos e sem extravasamento de fossas.....	282	46,5	121.260 "
	<u>607</u>		<u>261.010</u> "

Caramujos enviados ao Laboratório Regional para exame ... 13.120

Em SÃO VICENTE

Quarteirões 382

1.º) Quarteirões c/valas c/caramujos	39	10,3	9.946 metros
2.º) Quarteirões c/ valas c/caramujos e c/ extravasamento de fossas	33	8,9	8.035 "
3.º) Quarteirões c/valas sem caramujos e e sem extravasamento de fossas.....	53	13,9	12.905 "
4.º) Quarteirões c/valas sem caramujos e sem extravasamento de fossas	257	66,9	62.160 "
	<u>382</u>		<u>93.046</u> "

Caramujos enviados ao Laboratório Regional p/ exame 11.542

Em GUARUJÁ

Quarteirões 82

	N.º	%	Metragem
1.º) Quarteirões c/valas c/caramujos	3	3,7	1.152 metros
1.º) Quarteirões c/valas c/caramujos e extravasamento de fossas	3	3,7	1.680 "
3.º) Quarteirões c/valas sem caramujos e sem extravasamento de fossas	3	3,7	1.436 "
4.º) Quarteirões c/valas sem caramujos e sem extravasamento de fossas	73	88,9	27.239 "
	<u>82</u>		<u>31.507</u> "

Novos estudos foram feitos pelos Drs. Lineu Gonçalves e Hyder Pereira, sôbre moluscocidas e, deante do relato do que observamos no VIII Congresso Brasileiro de Higiene, realizado no Recife em 1950, deliberou a comissão sugerir que a verba a ser concedida pela Câmara Municipal fôsse, de início, empregada no estudo dos melhores moluscocidas, levando-se em conta: a concentração ideal; o tempo exigido para a morte dos caramujos, o seu poder residual; a sua inocuidade para o homem (especialmente para as crianças) e para os animais domésticos; o seu preço e as condições de miscibilidade na água das valas, dos canais e dos alagadiços, com sua variada composição química.

Atendendo a que o Prefeito Municipal, que havia designado a comissão, já havia se afastado do cargo, que, embora graciosa, a função de membro desta Comissão era de confiança do chefe do Executivo, considerando que estava tardando a concessão da verba a ser votada pela Câmara Municipal, o que vinha acarretando a paralização das atividades da comissão, resolveram os seus membros apresentar sua renúncia coletiva ao Sr. Prefeito Sócrates Aranha de Menezes, ao qual foi apresentado um relatório dos trabalhos e estudos realizados pela comissão, durante o período de 27 de abril de 1950 a 18 de janeiro de 1951.

Seus integrantes, no entanto, proseguiram em seus estudos e trabalhos e, com isto, novos casos continuam a surgir aqui e ali, domonstrando a necessidade de enérgicas e urgentes medidas que impeçam a ampliação dos focos já constatados.

No ano de 1950, em exames coprológicos feitos em amostras provenientes de S. Vicente, foi evidenciada a existência de casos de esquistossomose naquela cidade, onde se sabe abundam os moluscos do gênero *Australorbis*.

Em 1951, comprovou-se a presença de grande número de pessoas infestadas no Cubatão, em cujas valas foram encontrados muitos caramujos e nas quais são lançados os emissores das fossas e em cujas proximidades observamos, freqüentemente, dejeções humanas.

Examinando amostras de fezes e caramujos remetidos pelo Dr. Paulo Antunes e provenientes do Itapemã, confirmamos a verificação feita por êste distinto colega de mais um foco de esquistossomose *mansoni* o daquela localidade.

Em meados do corrente ano, fomos convidados pelo Sr. Comandante da Fortaleza de Itaipú para analisar a água destinada ao abastecimento daquela praça de guerra e, quando lá estivemos, fomos solicitados pelo nosso colega Cap. Dielson da Silva Faria para examinar os caramujos lá existentes, a fim de verificarmos se os mesmo eram os hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni*. Nas valas de drenagem e nas que serviam para a irrigação da horta, havia considerável quantidade de *Australorbis* e, atendendo a amável convite do comando daquela fortaleza, realizamos, em amplo

salão, para toda a guarnição, uma palestra sobre a doença de Manson-Pirajá da Silva, na qual exaltamos o perigo que ela representa para a nossa nacionalidade.

Devidamente autorizados pelo comando e de acordo com o médico de Itaipú, procedemos ao levantamento coprológico da guarnição e dos moradores civis daquele estabelecimento, o qual revelou alguns casos positivos. Estamos informados de que as autoridades militares tomaram as devidas providências, estando o Serviço Federal de Malária procedendo à limpeza das valas e à destruição dos caramujos na área daquele próprio federal.

Tendo vindo para Santos o nosso distinto e culto colega Dr. Ulysses Barbuda, para trabalhar no Serviço de Assistência Escolar junto aos grupos escolares do Estado, entramos em entendimento com ele e estamos fazendo um levantamento coprológico dos alunos destes estabelecimentos e já é apreciável o número obtido de crianças infestadas pelo *Schistosoma mansoni*.

Sobre este assunto nos reservamos para apresentar mais detalhado trabalho, oportunamente.

O Dr. Paulo Antunes e nós estamos interessados em realizar, no próximo ano, idêntico serviço nos grupos escolares municipais e, pelo que verificamos em inquéritos anteriores (MOURA, 1942 e 1945), estamos certos de que novas revelações surgirão desta pesquisa, para a qual precisamos contar com a aquiescência do Sr. Prefeito e do Diretor do Serviço de Assistência Médico-Escolar e com a cooperação dos nossos colegas deste Serviço, dos Srs. diretores dos grupos e do seu corpo docente.

Somos de opinião que os inquéritos coprológicos devem ser feitos cuidadosamente, por pessoal habilitado, empregando-se os métodos mais acurados para a investigação, não só da infestação pelo *Schistosoma mansoni*, como também de outros parasitos.

No Laboratório Regional de Santos do Instituto Adolfo Lutz, cada amostra de fezes é sujeita pelo menos a quatro exames :

1.º DIRETO — Visando a apreciação do material em natureza, entre lâmina e lamínula, no qual se constata se há sangue, pus, excesso de muco, demasiado número de resíduos alimentares, formas vegetativas de protozoários, larvas e ovos de helmintos, etc.

2.º APÓS CENTRIFUGAÇÃO — Ao ser realizada a técnica de Faust, é ela interrompida na penúltima etapa, antes da junção da solução hipertônica de sulfato de zinco, para a colheita de duas gotas do centrifugado, que são cuidadosamente examinadas, objetivando o achado de ovos pesados, larvas, etc.

3.º PROCESSO DE FAUST — destinado especialmente à visualização de quistos de protozoários e de ovos leves, como de Ancilostomídeos, etc.

4.º) MÉTODO DE HOFFMANN, PONS E JANER — um dos melhores para evidencição de ovos pesados, como os do *Schistosoma mansoni*, etc.

Além dêstes métodos, nos casos indicados, empregamos a técnica ideada pelo Sr. Maciste Remião, técnico de laboratório do Laboratório Regional de Santos do Instituto Adolfo Lutz, a qual foi publicada no trabalho do Dr. PAIVA MAGALHÃES (1949) sôbre o foco de schistosomose do Jabaquara.

Para pesquisa de larvas, usamos o método de Baermann, que nos tem proporcionado ótimos resultados.

Para que se possa fazer uma idéia do movimento da Sub-Secção de Parasitologia do Laboratório Regional de Santos, vamos transcrever alguns dados referentes aos 10 primeiros meses dêste ano e os dos primeiros dias do corrente mês de novembro

AMOSTRAS DE FEZES EXAMINADAS

De janeiro a outubro, inclusive — 8.917, sendo 8.034 positivos e 883 negativas.

Em novembro, até o dia 24 — 629 ainda não tabuladas.

EXAMES COPROLÓGICOS REALIZADOS

De janeiro a outubro, inclusive — 31.436

CARAMUJOS EXAMINADOS

De janeiro a outubro, inclusive — 38.120, sendo 156 com furco cercárias de *Schistosoma mansoni*.

Em novembro, até o dia 24 — 8.325, sendo 6 com furco cercárias do *Schistosoma mansoni*.

Amostras de fezes positivas para ovos de *Schistosoma mansoni* — 232 em 8.917 examinadas, isto é 2,6%.

Julgamos que os resultados obtidos pelos exames coprológicos cuidadosamente feitos proporcionam dados eficientes para a avaliação do grau de infestação do grupo de população onde se realize o estudo.

Com referência especial à esquistossomose *mansoni*, estamos de acôrdo de que a biópsia retal representa um eficiente meio a ser empregado quando discordem os dados clínicos com os exames coprológicos.

Apesar de conhecermos os trabalhos de OTTOLINA (1947), de PEREIRA (1949, 1951 e 1952), de MEIRA e MACEDO SOARES (1948) e os estudos de

Paulo Antunes, estamos convencidos, aliás como pensam também os referidos autores, que a aplicação dêste método como rotina é inexeqüível e que o mesmo não exclui nem substitui o exame coprológico. Ele é, na verdade, mais um recurso, e dos mais eficientes, a ser empregado no diagnóstico da schistosomose mansoni.

Sob o ponto de vista epidemiológico, o emprêgo da intradermo reação com antígenos preparados com cercárias ou com vermes adultos é, incontestavelmente, de grande valor, mas apresenta também certas dificuldades. Nem sempre é fácil obter uma quantidade de antígeno suficientemente grande para atender às necessidades de um inquérito de grandes proporções. Não é, às vêzes, fácil obter a necessária cooperação popular para a realização da prova intradérmica. A sua execução exige pessoal habilitado, para evitar falsas interpretações, possíveis contaminações, etc.

Conseguimos de Geth Jansen e de Júlio Muniz, do Instituto Oswaldo Cruz, pequenas quantidades de antígeno, que temos cedido ao Dr. Paulo Antunes para seus estudos ou empregado, pessoalmente, em investigações de nosso interesse.

Agora, vamos nos utilizar de pequena partida, posta à nossa disposição por José M. Ruiz, do Butantan, devendo êste antígeno servir de padrão para a dosagem da partida que a Senhorinha Lúcia Pires de Lacerda, técnica do Laboratório Regional, está em vias de ultimar.

Logo que estejam inauguradas as nossas instalações do biotério e assim que o Laboratório Regional possa contar com maior número de funcionários especializados, iniciaremos maior produção de antígeno para uso do Serviço de Profilaxia da Esquistossomose, dirigido com entusiasmo e competência pelo Dr. Paulo Antunes, e de outras unidades sanitárias da nossa região.

Esperamos que, com o proveitoso contacto que o Departamento de Higiene e Moléstias Tropicais de nossa Associação propicia aos especialistas no assunto, possa o Laboratório Regional de Santos do Instituto Adolfo Lutz aumentar a sua contribuição para melhor conhecimento da epidemiologia da esquistossomose *mansoni* entre nós, para o que conta com a indispensável, leal e eficiente cooperação de todos os serviços de Saúde Pública existentes na zona sul do Estado de São Paulo.

RESUMO

O autor faz um pequeno histórico da esquistossomose *mansoni* em Santos e, a seguir, enumera os trabalhos realizados pelo Laboratório Regional de Santos referentes à epidemiologia desta doença, nesta cidade.

Relata como foram descobertos os focos dos bairros do Sabóo e do Jabaquara e como se verificou a extensão desta helmintose pelo Macuco e Ponta da Praia.

Denuncia o perigo que representa à disseminação da esquistossomose *mansoni* a corrente imigratória de operários e trabalhadores vindos de zonas e Estados largamente atingidos por esta parasitose (Nordeste, Sergipe, Alagôas, Bahia e Minas Gerais), que se empregam, freqüentemente, como serventes, vigias de obras, etc e que residem nos próprios locais de trabalho, em geral desprovidos de instalações sanitárias e cujas dejeções são lançadas no chão ou em precaríssimas fossas negras em geral em conexão com as valas de drenagem onde proliferam os moluscos hospedeiros intermediários.

Mostra o que realizou uma comissão que foi designada para estudo e combate à esquistossomose, os resultados obtidos com inquéritos coprológicos feitos entre escolares, descreve os processos usados nos exames das amostras de fezes e analisa os meios empregados para o diagnóstico desta doença.

SUMMARY

In this paper, the author makes a report about the *Schistosomiasis mansoni* in Santos, State of São Paulo and enumerates the works which were realized by the "Laboratório Regional de Santos" referring to the epidemiology of the disease in this city.

He relates how the focuses of the disease in the districts of Saboó and Jabaquara were discovered and how the extension of this helminthose was effected through the districts of Macuco and Ponta da Praia.

The author denounces the danger that, for the dissemination of the *Schistosomiasis mansoni*, represents the stream of imigrants formed by workmen and laborers coming from zones and states largely attained by this parasitose (North-East, Sergipe, Alagôas, Bahia and Minas Gerais). Those imigrants accept jobs as servants or guards in constructions and live at the place of their work, where there is generally no sanitary installation. Consequently, their dejections are thrown to the ground or into the most precarious pits which are connected with drains where suitable species of snails infested by the parasite are abundant.

The author shows what a commission, named for the study and the fight against the *Schistosomiasis*, realized and the results obtained with coprological inquiries made among students. He also describes the methods used in coprological tests and analyses the means which were employed for the diagnose of this disease.

BIBLIOGRAFIA

- ARANTES, A. — 1923 — Sobre dois casos de schistosomose autoctones em Santos
Ann. Paul. Med. Cir. 14: 95-96.

- ARANTES, A. — 1923-1924 — Schistosomose em Santos. *Bol. Soc. Med. Cir. Santos* 3 : 20-23.
- ARANTES, A. — 1924 — 11 casos autoctones de schistosomose em Santos. *Bol. Soc. Med. Cir. São Paulo* 7 : 64.
- MAGALHÃES, Z. PAIVA — 1949 — Esquistosomiase mansoni. Novo foco autóctone em Santos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 9 : 5-17.
- MEIRA, J. ALVES e J. C. MACEDO SOARES Jr. — 1948 — A biópsia retal no diagnóstico da esquistosomiase mansoni. *Arq. Fac. Hig. Saúde Pú. Univ. S. Paulo* 2 (1) : 45-90.
- MOURA, S. A. LEÃO de — 1942 — Incidência das parasitoses nos escolares de Santos. *Imprensa Médica* 18 (340) : 98-101.
- MOURA, S. A. LEÃO de — 1945 — Schistosomose mansoni autóctone em Santos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 5 : 279-311.
- OTTOLINA, C. — 1947 — El problema clínico de la schistosomiasis mansoni ante nuevos métodos diagnósticos y sus resultados. *Rev. Policlín. Caracas* 16 : 55-72.
- PEREIRA, O. ARANTES — 1951 — A intradermoreação para diagnóstico de esquistosomose mansoni. *Res. Clin. - Cient.* 10 : 331-338.
- PEREIRA, O. ARANTES — 1952 — Considerações sobre a biópsia retal no diagnóstico da esquistosomose mansoni. *Rev. Bras. Gastroenterol.* 4 (2) : 283-290.
- PEREIRA, O. ARANTES e M. BARRETO NETTO — 1949 — Biópsia retal múltipla e oograma na esquistosomose mansoni. *Arq. Clínica* 9 : 127-153.
- TORRES, D. M. GONZALEZ — 1940 — Sobre um caso de schistosomose intestinal autóctone de Santos. Apendicite por Schistosoma (Schistomosa !) mansoni. *Arq. Inst. Biol.* 11 : 579-588.



FRAUDES DO CAFÉ

J. B. FERRAZ DE MENEZES JÚNIOR

Químico do Instituto Adolfo Lutz

Dos artifícios desonestos utilizados no comércio, a fraude é o mais comum e é tão velho quanto a própria humanidade.

Em todo sector especulativo onde esteja em jôgo o interêsse econômico, a ambição sem limites de aproveitadores sem escrúpulos faz sentir logo a sua indesejável presença.

A concorrência desleal desta casta de exploradores da economia popular se torna mais criminosa e desprezível quando se insurge no terreno da saúde pública, modificando e alterando a composição de produtos alimentícios, prejudicando e pondo em perigo a saúde e a vida de uma população.

Anular êste desonesto expediente foi sempre a preocupação máxima das autoridades sanitárias, em todos os quadrantes da Terra e em tôdas as épocas.

Às inúmeras e mais absurdas falsificações que se praticaram no passado podem-se juntar muitas outras que a argúcia inventiva dêstes artífices do mal cria, cada dia, para aumentar a série quase infinita de substâncias com que procuram dar vasão à sua incontida ganância.

Enquanto uns indivíduos fazem uso concientemente dos recursos da fraude, violando leis e regulamentos, outros dela tiram proveito, na ignorância da existência de meios capazes de a revelar e, se prevenidos dessa possibilidade, continuam ainda certos de que jamais alguém poderá reconhecê-la. A êstes parecerá inverossímel que um analista possa constatar a presença de fubá ou arroz numa farinha de trigo ou afirmar que uma "pessegada" foi feita exclusivamente de laranja.

A crença de que uma substância, depois de triturada, cosida ou torrada, desaparece ou some, como se costuma dizer, quando juntada a outra de igual aspecto, é a prova evidente das insistentes tentativas de fraudar os mais variados produtos alimentícios.

O café não escapou à regra. De todos os produtos, talvez, seja o que esteve e ainda está sujeito ao maior número de fraudes, por ser muito extensa a lista de substâncias que se prestam a êsse fim.

MACÉ (1891) refere-se à fraude, na França, do café crú, em grão, pela adição de água, com o fim de aumentar-lhe o peso, e ainda à "fabricação" de café artificial, moldado com argila ou com pasta de farinha de trigo misturada à bôrra de café.

Com o mesmo intuito, na Europa, tem sido ainda utilizado o barro, a massa de pão ou o pó de fôlhas de raízes misturadas a mucilagens e substâncias químicas, nem sempre inertes, coloridas artificialmente (MENEZES, 1950).

SCHNEIDER (1920) cita o azul da Prússia como sendo aplicado para colorir feijões, sementes diversas e seixos, na adulteração do café crú e BRETEAU (1907) indica o ocre, a grafita, o índigo, o amarelo cromo e os sais de cobre no tratamento de cafés avariados ou para dar melhor aparência ao produto de pouco valor comercial.

Esta preocupação não temos no Brasil. Continuando nosso país na liderança da produção mundial de café, o produto beneficiado encontra-se no comércio, enquadrado dentro dos tipos oficiais da Tabela de Classificação, predominando, todavia, os inferiores para o consumo interno, a fim de que os melhores tipos se destinem à exportação.

É o produto em pó o que melhor se presta à prática de fraudes. Seu aspecto exterior granuloso, sua contextura oleosa e aderente e sua côr, variando do castanho avermelhado ao pardo escuro, contribuem grandemente a se tornarem imperceptíveis, à vista desarmada, substâncias estranhas, as mais diversas, a êle adicionadas.

Desde que estejam com o mesmo grau de torração do café, estas substâncias são mascaradas pela adsorção do óleo e aderência das partículas mais finas do pó de café à sua superfície, tornando-se difícil seu reconhecimento sem o auxílio de aparelhos e métodos analíticos especiais.

Devido ao preço elevado que alcança o café nos países importadores, a sofisticação do produto em pó toma proporções alarmantes. São numerosas as substâncias utilizadas para êsse fim e, entre elas, umas são consideradas como "sucedâneos do café" e outras servem, unicamente, para aumentar-lhe o peso e o volume.

Há países em que o uso dos sucedâneos é considerado obrigatório e previsto em lei, havendo, por parte do consumidor, interesse e prazer em usá-los, talvez por força de hábito.

Êstes produtos jamais poderão substituir o saboroso café no seu delicioso aroma, sabor e propriedades farmacodinâmicas. Quase todos dão à bebida um gosto acre e intragável, lembrando o do mais intolerável remédio, acrescido de cheiro quase sempre desagradável e até mesmo repugnante. Eles são vendidos com o título de **Café**, seguido do nome da substância que o substitue (ex. : café-chicória, café-cevada, etc.)

Na Europa, os principais sucedâneos do café são os seguintes: — chicória, figo, cereais (cevada, trigo, centeio) e leguminosas. Para adulterar

o café em pó, aumentando-lhe o volume e o peso e, ainda, para comunicar à bebida uma cor artificial pardo-escura intensa, são apontadas as seguintes substâncias, além das citadas como "sucedâneos do café": feijão soja, dente de leão, ameixa, beterraba, cenoura, cascas e frutos do carvalho, amendoim, batata, castanha da Índia, caroba, carôço de tâmara, farinhas, féculas, farelo, palha, serragem de madeira e bôrra de café.

É de se notar a preferência que existe em diferentes países, na escolha de uma determinada substância para fraudar o café.

A chicória tem, na Europa Central, o seu lugar de destaque entre as demais substâncias adulterantes do café, por ser planta que cresce espontaneamente à beira das estradas e em terrenos baldios, donde resulta a facilidade de ser obtida em grande quantidade e por preço muito barato.

Como sucedâneo do café, a chicória é também constantemente sofisticada e são tantas as substâncias empregadas na sua adulteração quanto as que se aplicam na fraude do café.

Na América do Sul a chicória não terá, por certo, a extensa aplicação que tem na Europa, pela simples razão de ser, principalmente entre nós, planta cultivada em pequena escala, tão somente para atender ao mercado de verdura e legumes.

No Uruguai são os cereais (cevada, trigo, milho) as principais substâncias adulterantes do café em pó (ROSA MATO, 1937).

No Brasil, como em todos os países cafeicultores, existe um problema no terreno da fraude que traz constante preocupação aos órgãos fiscalizadores. Este problema baseia-se no fato de que a principal fraude do café em pó está ligada ao imediato aproveitamento da casca do próprio café.

Sabemos que uma substância é tanto mais propícia a uma fraude quanto mais semelhança tiver com o produto visado, maior for a quantidade existente e menor o seu preço aquisitivo.

A casca do café preenche tôdas estas condições. Conquanto não possua as características de sabor, cheiro e outras qualidades inerentes à semente do café, as suas condições de semelhança são, no entanto, superiores às das demais substâncias adulterantes, donde a preferência indiscutível na sua escolha entre tôdas elas.

É material existente em grande quantidade e foi, até bem pouco tempo, usada exclusivamente para adubo nas fazendas. Seu preço, relativamente baixo e "compensador", completa a soma das suas inconfundíveis vantagens.

Pouco antes da alta crescente do café, não se cogitava, entre nós, da fraude sistemática do produto destinado ao consumo. A maioria das torrefações só se interessava em produzir pós de café de boa qualidade por não haver compensação de ordem econômica em substituí-los pelos de má qualidade, pois, não sendo grande a diferença de preço entre os dois tipos, o

produto deixava ainda boa margem de lucro ao produtor e continuava a emprestar, à firma, a necessária reputação comercial.

A presença da casca, revelada algumas vèzes no exame microscópico, era devida à qualidade inferior de café utilizado na obtenção do pó, por torradores menos escrupulosos. Hoje, a adição propositada da casca ao café em pó é mais que evidente, mesmo porque os piores tipos de café permitidos pela Tabela Oficial de Classificação jamais poderão dar porcentagens elevadas de casca ao produto moído, como já se teve oportunidade de verificar experimentalmente.

A casca deixou de ser o adubo fértil e econômico da propriedade agrícola, para se transformar em preciosa mercadoria de um rendoso comércio clandestino entre o fazendeiro e o torrador. Não bastaram os dispositivos legais de proibição do transporte e comércio da casca de café, nem, tão pouco, a flagrante apreensão do material à porta ou no recinto das torrefações, seguida de severa punição aos detratores, com pesadas multas.

A casca continuava a aparecer no produto industrializado em proporções cada vez maiores, crescendo a porcentagem com o ritmo progressivo da elevação do preço do café. Apesar do Serviço de Policiamento da Alimentação Pública jamais ter deixado de enviar ao Instituto Adolfo Lutz, para análise, amostras de café em pó colhidas na Capital e os Laboratórios Regionais e Centros de Saúde colherem, para o mesmo fim, o produto no interior do Estado, uma fiscalização intensiva se fazia necessária para controlar as 434 torrefações existentes no Estado de S. Paulo, visando anular o efeito pernicioso desta modalidade de fraude, tornada, dia a dia, mais intensa. Competia à Superintendência dos Serviços do Café fazer esta fiscalização, o que, entretanto, de momento, não lhe era possível, por não estar aparelhada a fazer um serviço dessa natureza, principalmente por não possuir um laboratório de análises devidamente equipado.

No exame microscópico, a presença da casca no produto em pó era facilmente revelada, porém a sua determinação quantitativa se tornava impraticável pela falta de um método de análise especializado capaz de satisfazer tal exigência. Sòmente quando a proporção de casca de café encontrada no pó era grande, fazia-se constatar, nos láudos analíticos, a conclusão condenatória do produto, por estar em desacòrdo com as disposições legais em vigor. As quantidades pequenas eram toleradas, sendo o produto considerado próprio para o consumo por não se poder precisar a diferença que ia entre uma contaminação acidental e uma fraude de pequena proporção. Uma providência precisava ser tomada, visando anular o efeito pernicioso desta prática, tornada, dia a dia, mais intensa. Em 1948, tendo por objetivo a criação de um método analítico que viesse preencher esta lacuna, iniciaram-se, na Sub-Secção de Microscopia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz, ensaios que, num período de dois anos, foram prosse-

guidos com o fim de alcançar a meta desejada. Em 1950, com a publicação do trabalho "Método microscópico para contagem de cascas no café em pó", de autoria de J. B. Ferraz de Menezes Júnior e a colaboração de Bento Augusto de Almeida Bicudo, realizou-se o nosso desiderato.

Pôsto em prática o método, num entrosamento de serviços entre a Superintendência dos Serviços do Café e o Instituto Adolfo Lutz, conseguiu-se obter, em menos de um ano de atividade, a ausência quase completa desta modalidade de fraude na Capital paulista e uma considerável melhora do produto no interior do Estado, onde a fiscalização ainda não fôra intensificada. A casca, cujo preço chegou a atingir o valor de um terço da saca do melhor café (Cr.\$ 400,00), com esta providencial atitude obteve um declínio considerável no seu valor aquisitivo, pela diminuta procura que passou a ter por parte dos interessados. Os órgãos fiscalizadores muito lucraram com mais êste recurso analítico em benefício do consumidor.

Entretanto, a casca aí está e temos a certeza de que ainda continuará a despertar interesse e a insistir para que contumazes fraudadores a usem, isto porque, como dissemos, a fraude é um artifício criminoso, como tantos outros, que terá sempre, numa coletividade heterogênea, ambiente propício para desenvolver suas maléficas raízes, muito embora tenha à sua frente todos os obstáculos da Lei a vencer.

Vários meios têm sido empregados para encobrir ou mascarar a presença da casca no pó : — torração elevada, moagem fina, o emprêgo sòmente do marinheiro (endocarpo) proveniente de cafés despulpados. Êste último caso, talvez tenha sido lembrado com o intuito de estabelecer dúvida no espírito do analista, possibilitando confusão entre o marinheiro e a película (espermoderma), por ser a presença desta permitida no café em pó e a daquele condenada, por pertencer à casca. Todavia, esta confusão não é possível, visto possuírem tais elementos, isoladamente, estrutura própria e característica, como veremos (fig. 1).

Além da casca do café, outras substâncias têm sido encontradas de permeio com o pó entregue ao consumo ; entretanto, levando-se em conta o número de cafés fraudados com a casca, a proporção dos que se apresentam com diferentes substâncias é, comparativamente, pequena.

Dentre elas, citaremos as seguintes, na ordem de sua freqüência : — milho, casca da semente do cacáu, torrões e areia, cevada, arroz, feijão, caramelo, sacarose, colza, fedegoso e soja. As quatro últimas substâncias que fazem parte desta relação foram encontradas, em exame microscópico, uma única vez cada uma delas.

As substâncias aqui enumeradas como adulterantes referem-se a fraudes praticadas sòmente no Estado de São Paulo. Deixamos de abordar o assunto no tocante aos outros Estados da União, por não termos dados concretos para uma devida elucidação.

A cevada torrada, até bem pouco tempo, era entregue ao consumo público como um sucedâneo do café. A bebida era apreciada por muitas pessoas, contando-se, entre elas, os intransigentes inimigos do café, os doentes atacados de hiperacidez, nervosismo e insônia e os adeptos de religiões que proíbem o uso de excitantes.

A venda do produto estava garantida por licença adquirida, após exame prévio, em laboratório oficial do Estado.

O Decreto-lei n.º 1996 de 1-2-1940, reforçando as exigências do artigo 12 do Regulamento a que se refere o Decreto n.º 23.938 de 28-2-1934, veio caçar-lhe este direito, por proibir, taxativamente, a fabricação, o comércio e o consumo de quaisquer sucedâneos do café.

Esta medida, muito lógica, tinha por fim evitar que na **Terra do Café**, às portas da superprodução, fôsse admitida no comércio a livre concorrência de um produto inferior, que procurava ostentar as qualidades da saborosa rubiácea. Esta tolerância reverteria em prejuízo do consumo do café, cujo uso deveria ser incentivado e, ainda, poderia franquear as portas à fraude do café que seria, então, adulterado com um sucedâneo permitido por lei, como acontece com o “café-chicória” na Europa. Os sucedâneos do café a que se refere o Decreto-lei n.º 1.996 de 1-2-1940, são, textualmente, os seguintes :

“a) — oriundos de plantas e tubérculos :

chicória, dente de leão ou canudo de padre, raiz preta, cenoura, beterraba, nabo, colza, batata, grama, junco, amêndoa da terra (*Cyperus esculentus* L.), amendoim [*Lathyrus tuberosus* L. (?)], batata doce ;

b) — oriundos de frutos e sementes :

semente de aspargo, trigo, centeio, cevada, milho meúdo, sorgo, grão de bico, milho, arroz, caroços de tâmara e de outras palmeiras, banana ;

c) — oriundos de frutos de plantas dicotiledôneas :

caroços de nozes, caroços de avelã, caroços de faia, castanhas, bolotas de carvalho de verão e de inverno, carvalhos mediterrâneos, alfarrobeira, figo, amora, trigo sarraceno, espinho, amora branca, groselha, pêra, maçã, sorva, espinheiro, castanha da Índia, uva, avezinho, baga de roseira brava, cereja, cereja de pássaros, sementes de diversas espécies, bolota da terra, ervilhas, lentilhas, ervilhaca, ervilhas chatas, feijão, feijão soja.”

Entre as plantas aqui citadas, algumas são exóticas e outras desconhecidas e não cultivadas entre nós. Entretanto, esta relação poderia ser muito mais extensa se pretendêssemos citar, unicamente, as plantas nossas (frutos, sementes, tubérculos, etc.), em condições de serem aproveitadas como sucedâneos ou utilizadas na fraude do café.

DETERMINAÇÃO DAS FRAUDES

Sendo de natureza e composição várias as substâncias empregadas na adulteração do café e, ainda, o próprio café, diversos são os métodos utilizados na sua determinação.

Para a análise química do café são aproveitados os recursos firmados em leis físico-químicas, os quais se aplicam também ao exame microscópico. Este, cujo campo de ação é vastíssimo, requer a colaboração de vários sectores da Ciência, principalmente dos que se prendem à Biologia, dependência em que estão assentadas as bases da Microscopia Alimentar.

As determinações que, em conjunto, completam o quadro da análise química do café em pó, decidem pela boa ou má qualidade do produto industrializado.

Passando em revista tais determinações, podemos consignar como mais freqüentes nos laboratórios de Bromatologia as que constituem os "paradigmas de análises" do Instituto Adolfo Lutz.

CARACTERES ORGANOLÉPTICOS

- | | | |
|---|---|---------|
| 1 | { | Aspecto |
| | | Côr |
| | | Cheiro |
| | | Sabor |

DETERMINAÇÕES DIVERSAS

- 2) Substâncias voláteis a 105°C, g (por cento)
- 3) Trimetilxantina (Caféina), g (por cento)
- 4) Extrato aquoso, g (por cento)
- 5) Resíduo mineral fixo, g (por cento)
- 6) Resíduo mineral fixo insolúvel em ácido clorídrico
(1 + 9), g (por cento)
- 7) Resíduo mineral fixo solúvel em ácido clorídrico
(1 + 9), g (por cento)
- 8) Alcalinidade do resíduo mineral fixo solúvel em água, em solução normal, ml (por cem g)

PESQUISAS DIVERSAS

- 9) Metais
- 10) Eventuais
- 11) Exame microscópico.

As determinações acima enumeradas poderão ser feitas por métodos ou processo da escolha do analista ou da preferência do laboratório. Sendo numerosos os métodos de análise de alimentos, o resultado obtido com a aplicação de cada um dêles não será precisamente o mesmo, tratando-se de determinada substância. Com o fim de conseguir a padronização das técnicas de análises nos laboratórios oficiais e nos das indústrias de alimentos, de forma a se poder chegar, satisfatoriamente, a resultados uniformes, o Instituto Adolfo Lutz, após longos anos de estudo, publicou os "Métodos de Análises Bromatológicas", esperando que os mesmos sejam úteis não só a São Paulo e demais estados brasileiros, como também aos países sul americanos.

CARACTERES ORGANOLÉPTICOS : O aspecto apresentado pelo produto é altamente elucidativo, do ponto de vista analítico, por exibir cada substância, externamente, aparência própria, podendo ser reconhecida, muitas vezes, até mesmo à vista desarmada. A sua cor, muito embora modificada por efeito das múltiplas tonalidades oferecidas pela torração, apresenta meio seguro para distingui-la de outras, por sua vez características pertencentes a substâncias diferentes.

Idêntica elucidação pode fornecer a superfície áspera, lisa ou granulosa do material, seu brilho, transparência ou opacidade.

A peculiaridade do aroma é um índice orientador de grande importância na identificação bromatológica da amostra examinada e não é menos importante o recurso oferecido pela prova comparativa do sabor, muitas vezes "sui-generis", das substâncias.

A "prova de xícara" utilizada pelos classificadores oficiais de café vem confirmar a veracidade desta assertiva, pelo imediato resultado que apresenta a amostra examinada, assegurando tratar-se de um café de bebida "mole ou suave", "dura", "Rio" ou de sabor intermediário.

O café torrado, recentemente moído, tem aroma agradável, o qual, entretanto, à proporção que o café envelhece, vai se modificando lentamente, devido a alterações posteriores sofridas pelos componentes químicos do grão, por efeitos diversos (exposição ao ar, umidade, oxidação, rancificação, etc). Substâncias estranhas adicionadas ao pó de café modificam-lhe completamente o aroma, como se pode observar quando a chicória, o milho, a cevada e até mesmo a casca do café estão presentes.

Nêste caso, o sabor estará, também, modificado. Uma atenta observação comparativa dêste com o sabor particular do café, torna-se interessante, por poder, quase sempre, indicar a substância presente, como acontece com o caramelo, cujo gosto doce-amargo típico de açúcar queimado antecipa a sua determinação.

A prova é feita experimentando pequena porção do pó ou do seu infuso.

Os caracteres organolépticos de um produto cujo aspecto, côr, aroma e sabor estejam alterados, poderão, de início, alertar o analista a suspeitar de uma fraude e a guiá-lo na pesquisa ou determinação a fazer.

SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS: A determinação da umidade no pó de café pode constatar a fraude por adição de água, concluir pela torração, recente ou não, do produto e a precariedade de seu acondicionamento.

A molhagem do café em pó será determinada, portanto, por êsse meio, tendo-se em conta que os cafés recentemente torrados encerram em média de 1 a 2% de água, podendo atingir até 7%, à proporção que envelhecem. O café poderá absorver aproximadamente 20% de água, desde que seja adicionada ao torrador no ato da torração (HÉRAIL, 1927). Segundo PELLERIN (1910), a molhagem é caracterizada por uma proporção de água superior a 5%. Em análises de rotina efetuadas no Instituto Adolfo Lutz, os resultados encontrados foram de 2 a 9%, havendo predominância dos teores de 5 a 7%. De acôrdo com o nosso Regulamento Bromatológico, o café torrado e moído deverá ter no máximo 8% de substâncias voláteis a 105°C.

CAFEÍNA: A dosagem da cafeína continua a ser a prova distintiva e característica nas análises químicas do café e vem sendo mantida desde os primeiros ensaios de König — o clássico das análises de alimentos — quando isolou 8 constituintes, até hoje, em que mais de 40 princípios imediatos foram revelados na semente maravilhosa (PAULA, 1944).

Muito embora sejam conhecidos inúmeros componentes da semente do café, somente a cafeína foi, praticamente, estudada química e fisiologicamente, até o presente momento, motivo por que as qualidades farmacodinâmicas emprestadas ao infuso do café-bebida são as mesmas atribuídas à cafeína.

A cafeína foi encontrada em 125 análises de produtos comerciais realizados no Instituto Adolfo Lutz, na proporção de 0,700 g a 1,500 g%; desta forma, pressupõe-se como esgotado ou contendo substâncias estranhas o produto que apresentar teor abaixo de 0,700 g %.

Segundo alguns autores, dado o número considerável de espécies e variedades de cafés existentes e de acôrdo com as condições climatéricas, natureza do solo, tratamento, colheita e seca dos frutos, estas cifras poderão estar compreendidas entre 0,600 a 2,200 g %, sendo certo, entretanto, que os teores mais comumente encontrados estão compreendidos entre 1,0 g e 1,500 g %.

São conhecidas algumas espécies do gênero *Coffea* isentas de cafeína (*C. humboldtiana*, *C. galliennii*, *C. bonnierii* e *C. mogenetii*), como também produtos comerciais isentos de cafeína dos quais a mesma é extraída por processos patenteados. Êstes produtos, de larga aceitação na Europa e nos Estados Unidos, são conhecidos com as marcas: **Kaffee Hag**, **Sanka**,

Saka e Dekofa (WINTON, 1932). Após intensa campanha iniciada contra as propriedades farmacodinâmicas da saborosa bebida, tais produtos foram introduzidos no comércio por industriais interessados na exploração do café descafeinado, principalmente por fabricantes de cafeína.

Além dos fatores botânicos e mesológicos que podem atuar sobre a riqueza do principal alcalóide do café, necessário se torna levar em conta qual dos inúmeros métodos de extração foi empregado, qual o solvente utilizado e se o resultado refere-se ao café crú ou torrado. Nem todos os autores são claros neste sentido, deixando, por isso, permanecer uma dúvida no tocante aos resultados obtidos. Como a cafeína se encontra no café crú, não só em estado livre, como no de combinado, sob a forma de clorogenato de cafeína e clorogenato duplo de cafeína e potássio (COLLIN, 1908), a sua extração, de acôrdo com o método empregado, nem sempre será completa e, ainda, estando o seu ponto de fusão e de sublimação dentro das temperaturas usuais de torrefação, justifica-se a perda de cafeína, comumente observada entre o café crú e torrado.

Em seu relatório ao Instituto de Tecnologia de Massachusetts, o prof. Prescott declara que o café torrado encerra maior porcentagem de cafeína que o café crú, porém sua opinião não é a mesma da maioria dos entendidos no assunto (JOHNSON, 1935). CHARLES W. TRIGG (1935), membro do Instituto Mellon de Pesquisas Industriais afirma que : a variabilidade do teor de cafeína do café, segundo a intensidade de torração, é devida a que parte considerável da cafeína é volatilizada, ficando, desta forma, reduzida à quantidade primitiva existente no grão. Quanto mais a torração for impelida, tanto maior será essa redução, tendo, todavia, ficado demonstrado, pelas análises, que a perda da cafeína não se processa num ritmo proporcional à referida redução, visto a porcentagem da cafeína decrescer constantemente com a intensificação do grau de torração. Se a torração for impelida muito longe, quase ao ponto de carbonização, o teor em cafeína será quase nulo (UKERS, 1935).

São os seguintes os resultados apontados por alguns autores referentes à porcentagem de cafeína encontrada no café crú e torrado :

CAFÉ CRÚ		CAFÉ TORRADO	
De 0,8 a 1,8%	De 0,8 a 1,8%	(Collin)
De 1,0 a 1,5%	— —	(Hérail)
De 1,07 a 1,59%	De 0,82 a 2,19%	(Winton)
De 0,7 a 2,5%	— —	(Breteau)
— 1,87 (Café Santos)	1,81 —	(Triggs)
— — 1,0 a 2,0%	— —	(Youngken)

Há torradores que, no intuito de encobrir a fraude por adição de cascas, torram excessivamente o café, o que vem expor, mais facilmente, o produto à condenação por dois motivos: pela presença da casca que será, forçosamente, apontada pelo exame microscópico e pelo baixo teor de cafeína encontrado na análise química devido à sua volatilização por excesso de temperatura durante o processo de torra.

A nossa legislação bromatológica em vigor prevê, em 0,700 g%, o teor mínimo de cafeína para o produto comercial entregue ao consumo.

EXTRATO AQUOSO: As cifras apresentadas em nossas determinações do extrato aquoso estão compreendidas entre 20,70 e 29,00 g%, notando-se que, para o café de boa qualidade, a proporção foi de 23,00 a 26,00 g%. Uma alteração para mais ou para menos denunciaria, respectivamente, a adição de substâncias estranhas ou a possibilidade de se tratar de café esgotado. Nessas análises, nenhuma das amostras apresentou fraude por presença de caramelo, amiláceos e outras substâncias estranhas, a não ser a casca do próprio café, em proporções várias; caso contrário, teríamos a elevação desse teor para 38,00 g% ou mais, como se verificou em análises anteriores, nas quais foi constatada a presença de milho e de caramelo.

Winton dá como média normal para extrato aquoso os seguintes teores: — 22,35 g% para o café, 25,88 g% para o trigo e 72,98 g% para a chicória e Pellerin cita os seguintes: — 25,00 g% para o café, 70,00 g% para a chicória, 48,00 g% para os cereais torrados (centeio, massa de pão) e 65,00 g% para o mate torrado. Conclui-se, daí, que o café terá seu extrato aquoso aumentado toda vez que lhe forem juntadas substâncias estranhas que possuam extrato aquoso elevado e o terá com diminuição de peso (inferior a 25,00 g%) quando for parcialmente esgotado, contiver substâncias minerais ou pó de cascas e caroços de constituição pétreas.

Como o produto em pó entregue ao consumo é constituído de mistura de cafés de várias procedências a fim de se padronizarem as qualidades sápidas e aromáticas que devem ser permanentes para cada marca comercial, é natural que seu extrato aquoso tenha oscilação e seja encontrado dentro dos citados teores, cuja média comum é de 23,00 a 26,00 %.

Neste caso, tomamos a liberdade de lembrar, aqui, o grande interesse e mesmo a necessidade de figurar em nosso futuro *Codex alimentarius* um teor mínimo e um teor máximo a ser permitido para o extrato aquoso do café, visto não haver referência a respeito nas disposições legais do Regulamento Bromatológico em vigor.

RESÍDUO MINERAL FIXO: No café torrado, o resíduo mineral fixo total tem um âmbito de variação muito largo. As cifras por nós encontradas estão compreendidas entre 3,60 a 6,50 g% e Winton cita as seguintes, obtidas por alguns experimentadores: 3,74 a 4,38 g% (média 4,06 g%).

Como o resíduo mineral fixo total se compõe de uma parte solúvel e outra insolúvel em HCl a 1 + 9, compreende-se que, dentro das oscilações apresentadas pela soma dos teores encontrados nas duas partes do resíduo, existirá, quase sempre, para os cafés de boa qualidade, uma diferença apreciável a ser preenchida.

A média encontrada por pesquisadores americanos é de 0,75 g % para o insolúvel e de 3,31 g % para o solúvel.

Em nossas análises de rotina, a média encontrada dos valores do resíduo mineral fixo insolúvel está compreendida entre 0,08 a 0,20 g %, tendo os resultados oscilado de 0,008 a 1,40 g %.

Constatou-se que, tôdas as vêzes que êste resíduo insolúvel foi superior a 0,80 g %, o produto deixou de se enquadrar nos dispositivos legais em vigor.

Os nossos dados para o resíduo mineral fixo solúvel oscilam entre 3,50 a 5,80 g %, predominando, entretanto, as cifras de 4,00 a 4,30 g %.

Desta forma, um café com o resíduo mineral fixo total de 3,5 g % daria margem ao torrador a adicionar, fraudulentamente, até 1,5 g % de terra ou areia sem, contudo, ultrapassar o limite legal de 5,0 g %.

Esta prova continuará a ter valor relativo se não houver uma exigência legal para coibir um recurso tão propício à fraude.

Necessário se faz, também, figurar em nosso Regulamento Bromatológico um limite de tolerância para o resíduo mineral fixo insolúvel no HCl que acreditamos poder ser fixado no máximo de 0,20 g %, principalmente porque os torradores modernos possuem peneiras e ventiladores que permitem a eliminação de tais impurezas do café.

ALCALINIDADE DAS CINZAS: A determinação da alcalinidade do resíduo mineral fixo solúvel em água é feita como prova complementar e orientadora de outras determinações e principalmente quando a amostra analisada é suspeita de fraude por apresentar qualquer anormalidade.

A composição química dos vegetais será mais ou menos constante para cada espécie de planta, desde que o solo se mantenha favorável, fornecendo-lhe os necessários elementos plásticos e catalizadores necessários à formação de ácidos minerais e orgânicos, bases e compostos os mais diversos, indispensáveis ao seu desenvolvimento.

Nestas condições, a alcalinidade das cinzas, variando de um vegetal para outro, oferecerá recurso para diferenciar entre si duas substâncias examinadas.

Os resultados da Secção de Bromatologia do Instituto Adolfo Lutz, referentes à determinação da alcalinidade das cinzas do café em pó procedente das torrefações do Estado de S. Paulo, estão compreendidos entre 24,0 a 49,1%, sendo mais freqüentes os de 31,0 a 41,0%, predominando, todavia, os de 37,0 a 39,0% (média 38,0%). Não há exigência de limites

no Regulamento do Serviço de Policiamento da Alimentação Pública para os resultados dessa determinação química.

PESQUISAS DIVERSAS

METAIS: A pesquisa de metais pesados somente se tem feito em casos de denúncia ou de envenenamento, porquanto não tivemos, até a presente data, nenhum caso de fraude por adição de substâncias minerais ao pó de café.

EVENTUAIS: Faz-se a determinação do extrato etéreo toda vez que a amostra é suspeita de conter quantidade maior de matéria graxa, fraude muito comum quando o produto é exposto à venda, torrado e em grão, ou ainda quando se supõe tratar de café em pó esgotado. Os teores de extrato etéreo variam, geralmente, entre 12 g a 16 g %.

A pesquisa de glicídios deverá ser feita quando o extrato aquoso for elevado (substância amilífera, sacarose, etc.) No café torrado, a média de açúcares redutores é de 1,5, podendo oscilar para menos ou para mais, segundo alguns autores (1,30 g a 3 g %).

EXAME MICROSCÓPICO

É de todos os meios analíticos o que melhor e mais facilmente permite o reconhecimento de uma adulteração de produto alimentício.

Se o método químico pode apontar a presença de uma fraude, nem sempre estará em condições de identificá-la.

Com o exame microscópico não se passa o mesmo, por ser êle objetivo e nos dar a sensação exata da substância observada, podendo, assim, nos levar a uma conclusão real e satisfatória na identificação desejada. Por essa razão, jamais se pôde prescindir da sua aplicação nas análises bromatológicas e é já tão afastada esta prática que o início de seu uso sistemático, nos laboratórios, perde-se nas brumas do passado.

O emprêgo do microscópio é estendido a todos os ramos das ciências físico-químicas e naturais; a êle se deve grande parte dos conhecimentos humanos, a descoberta da causa de moléstias incuráveis outrora; é a base em que se assenta a Histologia vegetal e animal, a Biologia aplicada e muitas outras dependências. Ao microscópio se deve, também, a glória alcançada por cientistas e pesquisadores do passado que, em busca da verdade das cousas, entre mil dificuldades e sacrifícios, nos legaram o arsenal grandioso de saber que ilumina a civilização hodierna e que, no entanto, surgiu do invisível e do desconhecido de outrora.

Desde metade do século passado até nossos dias, são conhecidos compêndios de Microscopia Alimentar, monografias e importantes trabalhos ilustrados com excelentes desenhos publicados em revistas científicas que, enriquecendo a literatura especializada de nações cultas e civilizadas, firmam a utilidade dêsse recurso analítico e o interêsse despertado aos estudiosos do assunto.

Muito antes dessa época, entretanto, já apareciam publicações, dando conhecimento de investigações de reconhecido valor científico, bem como de importantes descobertas, possibilitadas pelo invento do microscópio, em 1590, por Zacharias Jansen (BARROS, 1944).

Em 1667, tendo por fim o aperfeiçoamento do microscópio, Robert Hook, ocasionalmente, descobre a célula vegetal, ao examinar um fragmento de cortiça.

Sua descoberta foi o marco divisório de uma nova era para o progresso da Fitologia, por se firmarem as bases da Histologia vegetal e animal, que representam o pedestal em que se alicerçam os princípios da Microscopia Alimentar. Leeuwenhoeck, em 1673, descreve pela primeira vez os glóbulos de gordura do leite e se coloca ao lado de Francesco Redi e outros, como um dos precursores da Bromatologia Analítica, pelas numerosas e pioneiras investigações microscópicas que lhe deram o merecido renome universal (TOBIAS NETO, 1946).

Em São Paulo, o exame microscópico de alimentos passou a constar, obrigatoriamente, dos laudos analíticos a partir de 1938, muito embora, anteriormente, o Laboratório de Análises Químicas e Bromatológicas do Estado já o aplicasse no exame de determinadas substâncias.

O café em pó sempre foi objeto de fiscalização por parte das autoridades sanitárias e o exame microscópico jamais deixou de prestar a sua cooperação, revelando a presença de substâncias estranhas, as mais diversas, a êle juntadas.

A presença da casca no pó de café, que constitui a fraude mais comum entre nós, era dada por método comparativo, usando-se as expressões: **raros, alguns, pequena e grande quantidade** de elementos da casca.

Com a criação do "Método microscópico para contagem da casca no café em pó" foi possível ponderar a quantidade porcentual de casca existente na amostra examinada, completando, desta forma, o exame microscópico até então limitado à identificação da substância estranha ao pó e sua relativa avaliação por método comparativo.

Para evitar interpretação errônea e a divulgação incorreta de que somente depois da criação do "Método microscópico para contagem de cascas no café em pó" foi possível revelar-se a presença de impurezas no pó de café, necessário se faz esclarecer que esta descoberta não veio trazer à Bromatologia um novo sistema de análise, porquanto, desde épocas re-

motas, já se identificava, por meio do microscópio, não só a presença da casca, mas a de qualquer substância estranha adicionada ao pó de café. Ele veio, sim, possibilitar a avaliação da porcentagem da casca de café existente no produto em pó, mas não a de qualquer "impureza", ou substância estranha, o que reclamaria o estudo de cada uma delas em particular, bem como a calibração de retículos para a construção dos respectivos quadros-padrões, proporcionando, desta forma, motivo para a realização de inúmeros trabalhos científicos de igual categoria.

Um elemento histológico observado sob as lentes do microscópio dá sempre, com precisão e clareza, oportunidade a ser reconhecido imediatamente por possuir estrutura própria, específica e inconfundível.

Casos há em que um tecido apresenta estreita semelhança com outro; todavia, tanto um como outro nos dará, sempre, uma característica singular que irá estabelecer a necessária diferenciação, quer seja por um tricoma, uma projeção, uma célula pétreia, uma fibra, uma modalidade de vaso ou de estômato, uma célula cristálfera ou um tubo de latex que será encontrado num deles e faltará no outro. A utilização deste recurso requer, da parte do analista, uma longa prática não só do manuseio do microscópio e acessórios especializados, como também das alterações que possam sofrer os tecidos vegetais sob a ação de um agente exterior. O calor é o agente que mais comumente produz alterações morfológicas aos tecidos, principalmente quando estes apresentam contextura delicada e são formados por células de composição complexa.

A alteração será tanto maior quanto mais elevada for a temperatura e maior o tempo de duração do aquecimento (MENEZES, 1946).

Se com o café crú se dá o fato interessante de sofrer visível modificação em sua estrutura química ao ser torrado, dando origem a novos constituintes, e ainda, nessas condições, manter quase intacta a morfologia interna de seus tecidos, o mesmo não se irá observar com a maioria dos sucedâneos. Dentre estes, notam-se algumas alterações de parênquimas que, numa determinada substância, poderão exibir três ou mais aspectos diferentes, como sói acontecer com o milho, o trigo, o arroz e outros.

Estas modalidades de aspecto serão facilmente contornadas pelo analista, após exercício comparativo em amostra original da substância a ser estudada em suas fases sucessivas de alteração.

Para os cereais, bem como outros frutos, sementes e raízes ricas em reserva amilífera quando torrados, o uso do lugol (solutio iodo-iodetado) será indicado, pela característica reação apresentada conforme o grau de temperatura por que passou o material examinado.

Esta reação de côr azul para o amido crú passará às tonalidades violácea, pardo-avermelhada e castanho, à proporção que se acentua a dextrinização do amido por efeito da intensidade de aquecimento. São encon-

trados, muitas vèzes, pequenos cristais nas preparações de amostras de café fraudado com substância amilífera (fig. 2), por ter o amido chegado à fase final de transformação que é a glicose, à vista das condições favoráveis apresentadas.

Ainda com as substâncias amilíferas, a alteração sofrida é função do grau de hidratação do parênquima e dos processos de aquecimento empregados, tais como : decocto ou cozimento, fritura, assamento e torração.

Em presença da água, sob a ação do calor, a célula amilífera aumenta de volume e seu citoplasma sofre transformações acentuadas, apresentando mudança de côr, granulações e aspectos os mais diversos, inclusive sua fácil desagregação do parênquima.

São mais intensas as modificações produzidas aos tecidos vegetais pela torração, por ser o aquecimento direto e sob temperatura elevada, o que lhes provokará uma crescente desidratação, com a contração das células e o aparecimento da côr parda, em várias tonalidades, típica das substâncias torradas.

As alterações da estrutura vegetal por efeito do calor, a que nos reportamos, não são tratadas nos compêndios comumente compulsados ou, pelo menos até a presente data, não encontramos trabalhos dêsse gênero na bibliografia que nos foi possível consultar.

Para se separar do pó de café as substâncias estranhas nêle contidas a fim de serem identificadas microscòpicamente, são aplicados os processos e meios físicos utilizados em microscopia alimentar.

MÉTODO FÍSICO : A separação dos componentes de uma mistura de pós se faz, através de líquidos apropriados, pela sedimentação de suas partículas na ordem de suas densidades ou de acôrdo com a natureza ou composição química de cada substância que poderá ser solúvel ou não no referido líquido.

SEPARAÇÃO PELO ÁGUA : O café em grão, artificial, constitui uma falsificação grosseira, facilmente reconhecida, não só pela pouca resistência das supostas sementes que se desfazem à simples pressão dos dedos, como por se desagregarem totalmente, quando mergulhadas em água.

O pó de café puro espalhado, aos poucos, na superfície da água contida num copo de 500 ml, flutua por muito tempo, porém, se contiver elementos estranhos, êstes tendem a sedimentar, donde poderão ser retirados após decantação do líquido, para serem examinados ao microscópio.

O café contendo milho, cevada e outras substâncias amilíferas, quando em contacto com a água, exhibe imediatamente uma tinta parda, transparente e as partículas que vão ao fundo, deixam, em seu trajeto, um filete da mesma côr. A coloração dada à água por essas partículas é devida à presença da dextrina e sua consequente caramelização, por efeito da maior ou menor intensidade de calor recebida durante a torração.

Quando o pó de café contém caramelo proveniente da adição de açúcar ao café em grão, no ato de torrar, produzirá intensa coloração observada, ainda, em repetidas porções de água juntadas ao sedimento.

Esta fraude tem por fim aumentar o peso do produto ou dar coloração artificial à bebida produzida por pó de café esgotado.

SEPARAÇÃO PELO CLOROFÓRMIO : A separação da terra, areia, metais pesados, sais minerais, cristais de sacarose, etc., adicionados ao café em pó, se procede por intermédio do clorofórmio, da seguinte maneira :

Em um cálice cônico de 60 ml, contendo 20 ml de clorofórmio, adicionar, aos poucos, 2 g do pó de café suspeito na superfície do líquido e, com a ponta de um bastão de vidro, agitar, cuidadosamente, por meio de pequenos movimentos circulares para que a camada colorida não chegue até o fundo do cálice onde o sedimento deve ser notado. Esperar por dez minutos, tirar com espátula o excesso de pó que sobrenada, decantar, cuidadosamente, o clorofórmio, deixando-se ficar no cálice 1 a 2 ml do líquido transparente, o qual será passado, com o sedimento, para uma lâmina, utilizando-se, para isso, uma alça de platina. A lâmina depois de seca será levada à lupa com aumento de 30x, para a identificação e avaliação da quantidade de areia, terra, torrões, etc., por meio de lâminas-padrões. O pó remanecente desse tratamento, depois de seco, facilita grandemente o reconhecimento da presença de substâncias estranhas por intermédio da lupa, podendo as mesmas serem retiradas com o auxílio de uma agulha. Estas substâncias serão transferidas para uma gota d'água colocada sobre uma lâmina, a qual, depois de recoberta por uma laminula, será examinada ao microscópio com objetivas de 80 e 400 aumentos.

Apresentaremos, a seguir, os desenhos e respectiva descrição dos principais caracteres histológicos das substâncias utilizadas na fraude do café em pó no Estado de S. Paulo. Lembramos, mais uma vez, que estas substâncias, descritas na ordem de sua freqüência, são raramente utilizadas em comparação ao número de fraudes praticadas ainda com a casca do café.

CARACTERES HISTOLÓGICOS DO CAFÉ TORRADO (*Coffea arabica* L.)

O café em pó deverá ser constituído exclusivamente pelos elementos histológicos da semente desprovida da casca e, parcialmente, livre da película que a reveste. Esta película prateada (espermoderma) se desprende da superfície da semente durante o processo de beneficiamento ; entretanto, continua ainda intacta, na parte interna, a envolver a fenda e as dobras da mesma. Por esta razão, a sua presença no pó de café é permitida ou considerada normal, à vista da falta de meios mecânicos capazes de retirá-la completamente. A semente está representada, na sua quase totali-

dade, pelo endosperma, de natureza córnea e elástica, quando a semente é crua e se torna sensivelmente quebradiço por efeito da torração. Êste fato, contudo, não altera a sua estrutura microscópica, senão na côr pardo-avermelhada adquirida pelo conteúdo celular contrastada pela côr amarelada das membranas.

A figura n.º 1 exhibe um campo microscópico aumentado 400 vêzes, no qual se pode notar um pó de café fraudado com a própria casca.

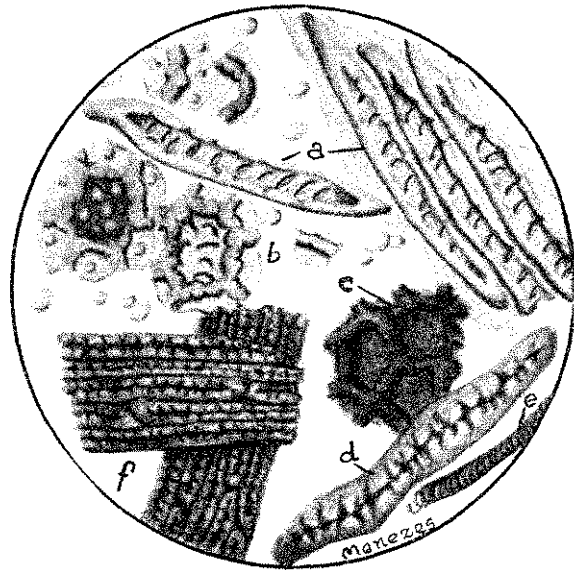


Fig. 1 — Café torrado em pó contendo cascas — 400 x (original).

O conjunto dêsses elementos representa, na ordem que se segue, os constituintes do fruto do café torrado :

S E M E N T E

a) Espermoderma — formado de fibras alongadas, fusiformes, de paredes grossas, levemente caniculadas, de lume bem aberto, apresentando uma côr amarela clara e uma série de poros oblíquos, bem distintos, na extensão de seu comprimento. Estas fibras estão reunidas em grupos e se acham assentadas sôbre uma fina membrana transparente.

b) Endosperma — constituído de células poligonais ou isodiamétricas, de paredes grossas e nodosas. Estas células são volumosas e apresentam um conteúdo pardacento ou pardo-avermelhado, de natureza proteica e gôtas oleosas. Suas membranas são ligeiramente amareladas e de natureza celulósica, deixando, muitas vêzes, notar a presença de poros, grandes e pequenos, redondos ou estirados.

C A S C A (pericarpo)

e) Mesocarpo — apresenta um parênquima de células poligonais de paredes lisas, de cor pardo escura mais acentuada que a do endosperma e são pouco transparentes. Oferecem estas células alguma semelhança morfológica com as do endosperma, porém a característica de possuírem paredes lisas e não nodosas, serem menores e menos regulares em seu tamanho, permite diferenciá-las com facilidade.

Na região mediana passam as fibras (d) e os vasos espiralóides (e) pertencentes aos feixes fibro-vasculares. Na parte externa encontra-se o epicarpo formado de pequenas células poligonais, encerrando conteúdo pardo e estômatos visíveis após descoramento pelo soluto de hipoclorito de sódio.

f) Endocarpo — constituído de fibras esclerenquimáticas, de cor pardo-avermelhada, longas, de lume estreito, intensamente raiadas, cruzando-se no sentido transversal e longitudinal para formarem um típico entrelaçamento que é a razão da grande resistência oferecida por esta camada do pericarpo à trituração.

Em observação à lupa, verifica-se que o pó de café se compõe de uma parte impalpável e outra formada de grânulos irregulares ou facetados. A presença da casca será notada pelo contraste de cor que apresenta com o pó de café, pelo aspecto laminado de suas partículas. A técnica para o exame microscópico do café já tivemos oportunidade de descrever em nosso trabalho: “Sobre um método microscópico para contagem de cascas no café em pó” (MENEZES e BICUDO, 1950).

DISTINÇÃO ENTRE A PELÍCULA E O MARINHEIRO — Como foi esclarecido anteriormente, a presença da película no pó de café é tolerada, porém a do marinheiro não é permitida, por lei, por pertencer à casca. Entretanto, constantemente há reclamações por parte de alguns infratores, negando a adição de casca ao produto manufaturado e alegando possível confusão analítica com a película. A fig. 1, que ilustra a morfologia microscópica da película e do marinheiro, pode assegurar a impraticabilidade da confusão alegada, pelas características diferenciais inerentes a cada um destes elementos.

No campo microscópico de uma lupa, com o aumento de 20 a 30 vezes, pode-se constatar num pó de café, previamente descorado pelo clorofórmio, que a película é de textura muito fina e pouco resistente, partindo-se facilmente sob a leve pressão de um estilete, o que não acontece com o marinheiro, de muito maior espessura e dureza, devido ao entrelaçamento original de suas fibras, apresentando, ainda, contornos irregulares ou retilíneos e superfície nitidamente estriada. Ainda à lupa, os demais elementos

da casca (epicarpo e mesocarpo) se apresentam com caracteres típicos que os fazem se destacar dos elementos do pó de café puro (endosperma), dos da película (espermoderma) e do marinho (endocarpo), principalmente pela cor enegrecida, superfície granulosa e grande espessura de suas partículas, pois o mesocarpo, além de representar a maior porção da casca, dificilmente se separa do epicarpo.

CARACTERES HISTOLÓGICOS DO MILHO TORRADO (*Zea mays* L.)

Depois da casca de café, o milho é o adulterante preferido por certos torradores para fraudar o café em pó. É cultivado em grande escala em nosso país e seu preço, relativamente baixo, torna-o escolhido entre as demais substâncias visadas para esse fim.

Sabedores da existência de um método que denunciava a presença da casca no pó de café, alguns torradores tentaram adicionar, ao café moído, milho torrado, desprovido da casca (pericarpo), na certeza de que não fosse possível a sua identificação.

A fig. 2 mostra os elementos histológicos do milho torrado, observados ao microscópio com o grande aumento:

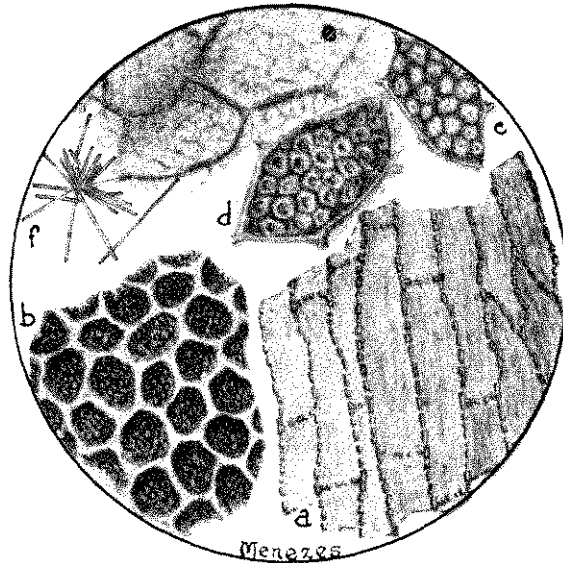


Fig. 2 — Elementos histológicos do milho torrado — 400 x (original).

C A S C A (pericarpo)

a) Epicarpo — formado de células nodosas, alongadas e retangulares. Estas células são semelhantes às do mesocarpo, o qual se apresenta com

uma dezena de camadas mais ou menos iguais. O epicarpo é desprovido de pêlos. As células transversais e as tubulares, dificilmente observáveis ao microscópio devido a forte contração sofrida por suas delicadas paredes durante o processo de torração, poderão ser notadas, após descoramento pelos processos usuais.

S E M E N T E (endosperma)

b) Camada de glúten — constituída de uma ou, raramente, de duas fileiras de células poligonais, de paredes grossas, contendo grânulos de aleurona.

c, d, e) Parênquima amilífero — formado de grandes células poligonais, de paredes finas, ricas em grãos de amido, poliédricos, sem estratificação e com hilo pontuado, emitindo muitas vêzes dois ou três pequeninos raios.

Por efeito de um aquecimento prolongado, o grão de amido desidrata-se, contrai-se, torna-se quase arredondado e o hilo aumenta de volume. Nesta fase de destrinização do amido, como se observa na figura 2, vários aspectos morfológicos são observados nas células do parênquima.

Em circunstâncias especiais, atingem a fase final de alteração (e), podendo-se observar, ao microscópio, em preparação aquosa, entre lâmina e lamínula, que as células apresentam um conteúdo rendado, transparente, de onde a glicose foi retirada, por osmose ou por fratura das membranas celulares para se dissolver na água da preparação. Posteriormente, após evaporação da água, aparecem pequenos cristais típicos de glicose, em agulhas, formando agrupamentos circulares.

f) Cristais de glicose em agulha.

CARACTERES HISTOLÓGICOS DA CASCA DE CACAU TORRADO (*Theobroma cacao* L.)

A casca do cacau é usada com alguma freqüência na fraude do café em pó, com o fim de lhe dar melhor sabor e aroma e ainda com a intenção de maiores lucros por ser material de pouco valor comercial.

Quando cafés de tipo baixo ou deteriorados são utilizados pelos torra- dores, a casca do cacau é logo lembrada para corrigir as condições péssimas do produto e exaltar, artificialmente, as suas qualidades sápidas.

A casca do cacau tem sido procurada nas fábricas de cacau e chocolate por torra- dores de café e foi, até pouco tempo, objeto de grandes e interes- santes transações comerciais com fabricantes de torta de cacau do Estado da Bahia. Depois que a Superintendência dos Serviços do Café, num entros- samento de serviços com o Instituto Adolfo Lutz, intensificou a fiscali- zação do produto industrializado em todo o território paulista, este comércio

clandestino entrou em franco declínio, como aconteceu com a casca do café. Atualmente é muito raro encontrar-se pó de café fraudado com cascas de cacau.

Na figura 3 e sua descrição, fazemos referência ao endocarpo que pertence ao fruto, por vir esta camada, comumente, aderida à casca e ser também observada no exame microscópico.

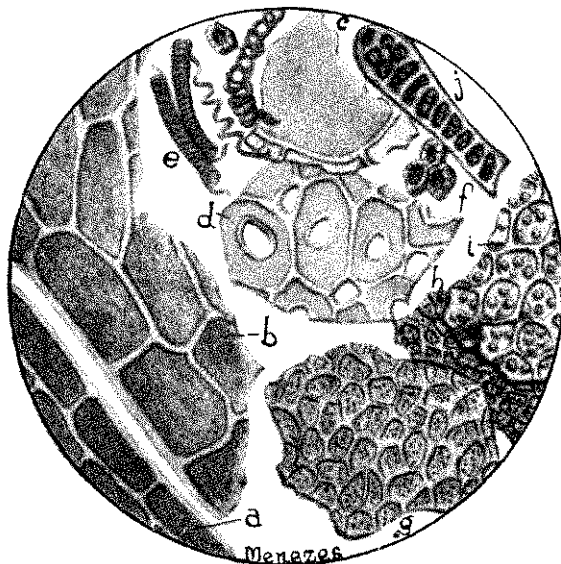


Fig. 3 — Elementos histológicos da casca de cacau, torrada — 400 x (original).

A ordem alfabética que é observada na descrição do desenho acima corresponde à seqüência natural das diferentes camadas existentes na casca (espermoderma) :

F R U T O (pericarpo)

a) Endocarpo — constituído de células alongadas, de paredes finas. Algumas vêzes são encontradas células estreitamente achatadas, pertencentes ao mesocarpo.

C A S C A (espermoderma)

b) Epiderme — formada de grandes células de paredes finas e dispostas em fileiras.

c) Células mucilaginosas — situadas logo abaixo da epiderme, constituindo uma série de grandes bolsas ovais.

d) Parênquima esponjoso — de células arredondadas ou irregulares, apresentando meatos.

e) Dutos espiralóides dos feixes fibro-vasculares que atravessam o parênquima esponjoso.

f) Células pétreas dispostas em fileiras, formando uma única parede situada na parte mais interna do parênquima entre as últimas camadas de pequenas células alongadas, fortemente achatadas.

g) Endosperma — denominado película prateada, é constituído por uma camada de células poligonais de paredes finas, com conteúdo pardacento e granuloso.

h) Epiderme da radícula — formada de diminutas células alongadas, de paredes estreitas e granulações finas.

i) Epiderme dos cotilédones — constituída de células de pequenas dimensões, isodiamétricas, quadrangulares ou irregulares, apresentando conteúdo pardo e granuloso.

j) Pêlos — também denominados corpúsculos de Mitscherlich — são pêlos multicelulares contendo granulações pardas. Estão situados sobre as epidermes da radícula e dos cotilédones. Como as citadas epidermes, geralmente estão aderentes ao endosperma e, por sua vez, este aparece ligado às últimas porções do espermoderma, ao se examinar microscôpicamente o pó de cascas de cacau, os corpúsculos de Mitscherlich são observados, bem como fragmentos das duas epidermes.

CARACTERES HISTOLÓGICOS DA CEVADA TORRADA

(*Hordeum sativum* Jess.)

Durante todo o tempo em que se faz, sistematicamente, o exame microscópico nas análises bromatológicas, poucas vezes foi constatada a presença da cevada no café em pó entregue ao comércio. Como sucedâneo do café, foi examinado e identificado microscôpicamente, muitas vezes, antes da vigência do Decreto-lei n.º 1996 de 1-2-40.

O aspecto da cevada torrada em pó é bem semelhante ao do café finamente moído. Seu aroma e sabor, todavia, são bem diversos, conquanto não sejam desagradáveis como os do feijão torrado e outras sementes, frutos e raízes.

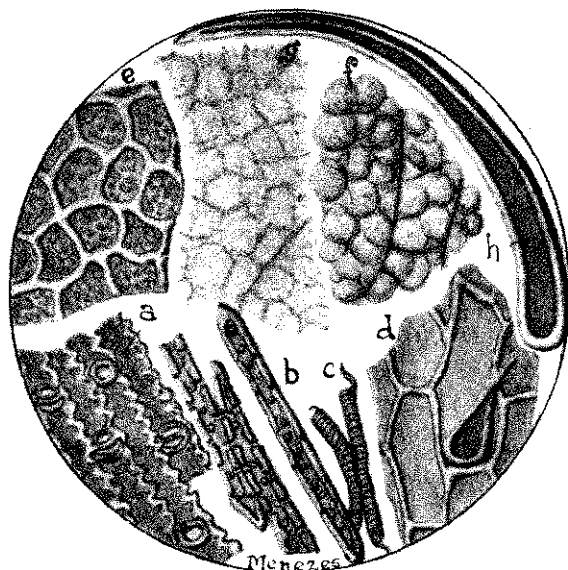


Fig. 4 — Elementos histológicos da cevada torrada — 400 x (original).

GLUMAS

- a) Epiderme externa — constituída de células onduladas, alongadas e paralelas, interceptadas por células gêmeas, ovais e por células arredondadas ;
- b) Esclerênquima — formado de fibras de paredes grossas e fibras de paredes finas, com poros redondos e diagonais ;
- c) Duto espiralóide do feixe fibro-vascular das quilhas ;
- d) Epiderme interna — de células poligonais, grandes, com pêlos curtos e afilados.

ENDOSPERMA

- e) Camada de glúten — formada de células de paredes grossas, forma irregular, menores que as do trigo e do centeio e contendo grãos de aleurona ;
- f) Parênquima amilífero ligeiramente alterado pelo calor — constituído de grandes células de paredes finas, contendo grãos de amido esféricos, levemente destrinizados ;
- g) Parênquima amilífero fortemente alterado pela torração ;
- h) Pêlo de paredes mais estreitas que o lume e base arredondada.

CARACTERES HISTOLÓGICOS DO ARROZ COM CASCA, TORRADO

(*Oryza sativa* L.)

A fraude do café em pó realizada pela adição de arroz é pouco comum. Em análise microscópica de pó de café, foi constatada a presença, em con-

junto, dos elementos histológicos de arroz e de feijão, o que nos levou à conclusão de se tratar de “café de varredura de armazém”, por se acharem as duas substâncias no mesmo armazém em que se encontrava o café. A legislação em vigor não permite, entretanto, a presença de substâncias estranhas no mesmo recinto onde se armazena café.

São os seguintes os principais elementos histológicos do arroz em casca :

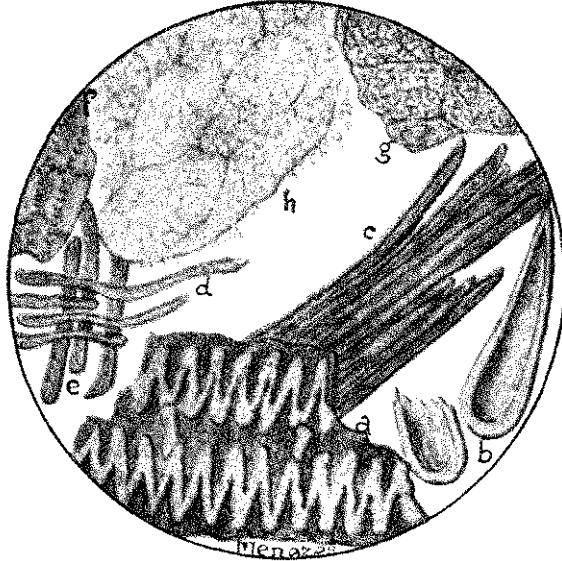


Fig. 5 — Elementos histológicos do arroz em casca, torrado — 400 x (original).

C A S C A (palet)

- a) Epiderme externa da casca — de células acentuadamente sinuosas, de paredes grossas, formando fileiras longitudinais ;
- b) Pêlos duros e retos, de lume bem aberto ;
- c) Fibras longas, de paredes estreitas, do hipoderma.

P E R I C A R P O

- d) Células transversais — alongadas, vermiformes e de paredes finas ;
- e) Células utriculares — alongadas e implantadas, perpendicularmente, às células transversais. São observadas com facilidade em material descorado ;

f) Perisperma — formado de células alongadas transversalmente, diferenciando-se das células do espermoderma, por apresentarem paredes em forma de contas.

E N D O S P E R M A

g) Parênquima amilífero ligeiramente alterado pelo calor — constituído de células de pequeno tamanho, repletas de diminutos grãos de amido poligonais ;

h) Parênquima amilífero fortemente alterado pela torração.

Por falta de espaço, não desenhamos, na fig. 5, as células de aleurona da camada de glúten, que apresentam alguma semelhança com as dos diferentes cereais.

Em todos os desenhos, o critério adotado foi o da escolha dos elementos histológicos mais característicos das substâncias estudadas, de modo a facilitar a identificação.

CARACTERES HISTOLÓGICOS DO FEIJÃO TORRADO

(*Phaseolus vulgaris* L.)

O feijão é, também, pouco usado na fraude do café. Quando torrado e moído, adquire cheiro e sabor desagradáveis, o que não o recomenda na prática da fraude.

Tem sido encontrado em exame microscópico de café procedente de varredura de armazém, geralmente de mistura com outras sementes.

Seus principais elementos histológicos são os seguintes :

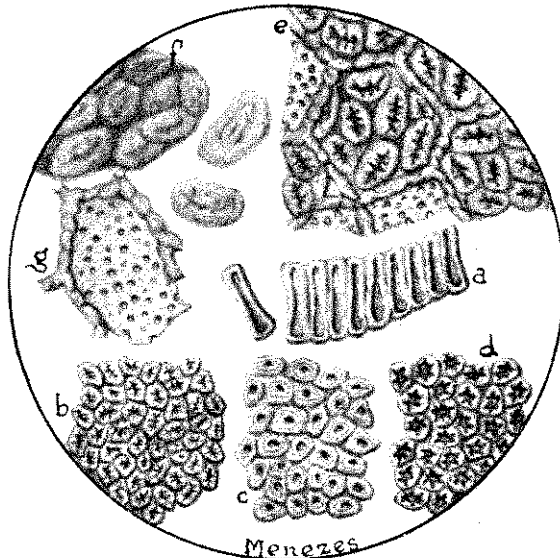


Fig. 6 — Elementos histológicos do feijão torrado — 400 x (original).

ESPERMODERMA

- a) Células paliçádicas ;
- b) Epiderme externa da paliçada ;
- c) Epiderme interna da paliçada ;
- d) Hipoderma ;

EMBRIÃO

e) Parênquima amilífero pouco alterado pelo calor, constituído de células poligonais ou isodiamétricas, de paredes grossas, nodosas e grãos de amido riniformes, elípticos ou triangulares, com hilo linear, ocupando quase o comprimento do grão, donde partem pequenos raios ;

f) Substância amilífera do conteúdo celular, fortemente alterada pelo calor, e que se desprende, intacta, pela rutura das paredes das células ;

g) Membrana celular, de paredes nodosas, apresentando poros arredondados.

CARACTERES HISTOLÓGICOS DA SEMENTE TORRADA DE COLZA

(*Brassica napus* L. var. oleifera D.C.)

Um pó de café por nós examinado constatou a presença da semente torrada de colza e inteira. Talvez, pelo diminuto tamanho das sementes, o fraudador achou desnecessário moê-las, pois a porção mais fina do pó de café, aderindo-lhe à superfície, não iria permitir o seu reconhecimento à vista desarmada.

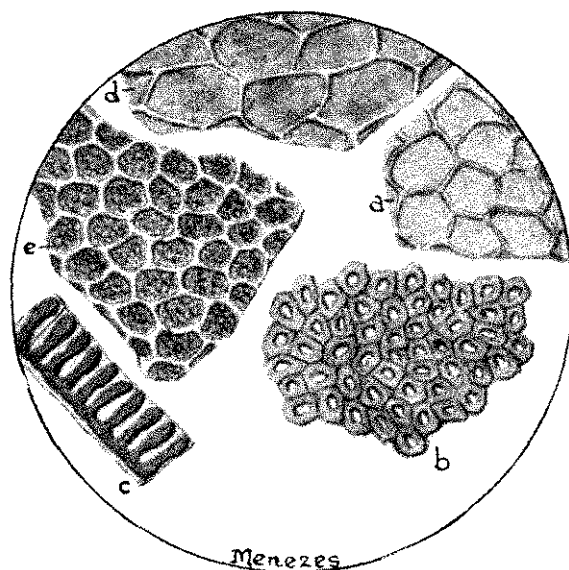


Fig. 7 — Elementos histológicos da semente torrada de colza — 400 x (original).

ESPERMODERMA

- a) Epiderme de células poligonais e de paredes finas ;
- b) Células paliádicas vistas por sua parte superior ;
- c) Paliçada vista de lado ;
- d) Células pigmentadas ;

EMBRIÃO

- e) Células poligonais de paredes grossas contendo grãos de aleurona e gôtas oleosas.

CARACTERES HISTOLÓGICOS DA SEMENTE TORRADA DE FEDEGOSO

(*Cassia occidentalis* L.)

Já se usou, no passado, o fedegoso como sucedâneo do café em pequenas propriedades agrícolas e por habitantes pobres de certas regiões do Estado de S. Paulo. WINTON (1939) faz referência ao uso das sementes de fedegoso, no Brasil, como sucedâneo do café e SCHULTZ (1939) declara que “nas fazendas dos campos riograndenses as mesmas servem, às vêzes, para substituir o café, muito embora o gôsto da bebida seja apreciada sômente por consumidores acostumados”.

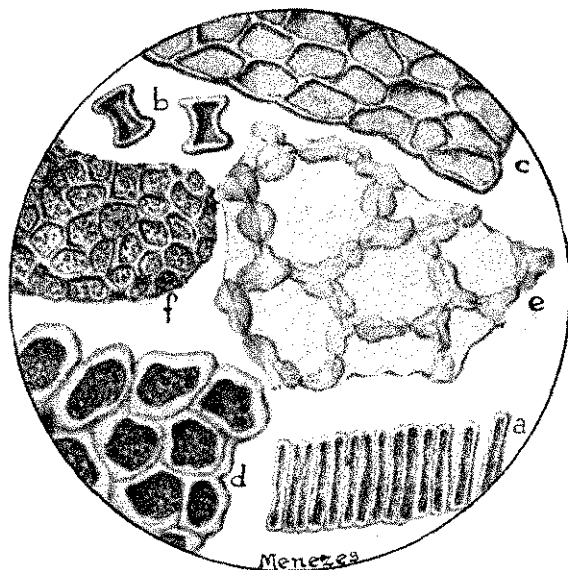


Fig. 8 — Elementos histológicos da semente torrada de fedegoso — 400 x (original).

O hábito de tomar café está, de tal forma, difundido na terra bandeirante, que acreditamos ser pouco provável a existência de alguém capaz de substituir, hoje, a preciosa bebida, pelo infuso desagradável fornecido pelo fedegoso. Entretanto, está fora de qualquer dúvida a possibilidade da fraude do café em pó por essa ou por qualquer outra semente torrada que esteja às mãos do fraudador, em quantidade suficiente e em condições de ser aproveitada.

ESPERMODERMA

- a) Células paliádicas ;
- b) Células em forma de carretel da subepiderme ;
- c) Parênquima de células isodiamétricas ou quadrilaterais do perisperma ;

ENDOSPERMA

- d) Células mucilaginosas, de paredes grossas, da camada externa, contendo grãos de aleurona ;
- e) Células mucilaginosas da camada interna, grandes, isodiamétricas, de paredes grossas, nodosas e irregulares, desprovidas de aleurona ;

EMBRIÃO

- f) Células do parênquima cotiledonar, de paredes finas, contendo pequenos grãos de aleurona e gôtas oleosas. Ausência de amido.

CARACTERES HISTOLÓGICOS DO FEIJÃO SOJA TORRADO

(*Glycine soja* Sieb. e Zucc.)

Como os representantes dos gêneros e famílias de plantas guardam, quase sempre, entre si, estreita harmonia histológica, vemos que há entre a soja, o fedegoso e feijão comum (Leguminosas) um laço de união muito grande ; todavia, chega-se facilmente a indentificá-los por pequenos caracteres diferenciais existentes, não só nos tecidos do espermoderma de cada um deles, como pela marcante especificidade estrutural de seus embriões, conforme se pode observar nos respectivos desenhos (figs. 6, 8 e 9).

O embrião do feijão comum é constituído de células grandes, poligonais ou isodiamétricas, de paredes grossas e nodosas, com poros arredondados e conteúdo amilífero, enquanto que o da semente de fedegoso apresenta células isodiamétricas pequenas, de paredes finas, contendo aleurona

e gôtas oleosas e não possuem amido. Nas células do embrião da soja, usualmente, não encontramos amido e sim aleurona e matéria graxa ; suas paredes são simples, estreitas e a forma da célula é poligonal, bastante alongada e muito menor que a do feijão comum. Há algumas variedades de soja procedentes do Japão que apresentam pequena porção de amido em seu conteúdo celular aleuro-oleoso.

A soja ou feijão-soja, bem como o fedegoso e a colza, foram constatados, de permeio com o pó de café, sômente uma vez cada um dêles, em análises microscópicas procedidas no Instituto Adolfo Lutz.

Decidimos mencioná-los em nosso trabalho pela simples razão de já terem sido utilizados, muito embora uma vez, na prática da fraude, podendo, portanto, ser lembrada a sua aplicação futuramente.

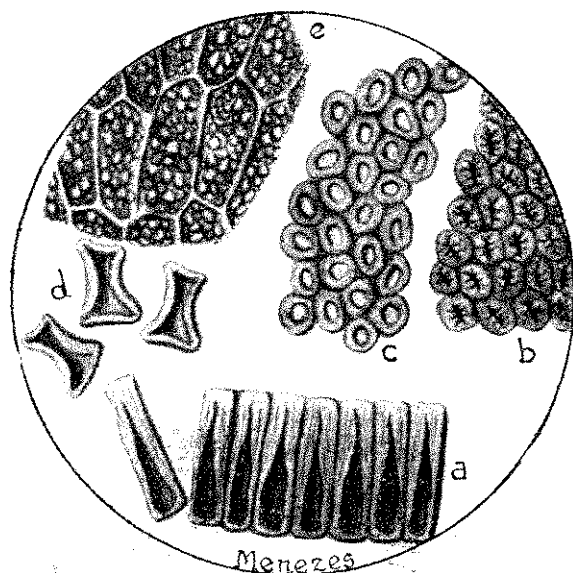


Fig. 9 — Elementos histológicos de semente torrada do feijão-soja — 400 x (original).

ESPERMODERMA

- a) Células paliçádicas ;
- b) Epiderme externa da paliçada ;
- c) Epiderme interna da paliçada ;
- d) Células em forma de carretel da subepiderme, maiores que as do fedegoso, apresentando a sua parte superior mais estreita que a inferior.

E M B R I ã O

- e) Células de paredes finas dos cotilédones, de forma poligonal, alongadas, formando paliçada e com reserva de aleurona e óleo. Ausência de amido.

CARACTERES HISTOLÓGICOS DA RAIZ DE CHICÓRIA TORRADA

(*Cichorium intybus* L.)

A chicória ainda não foi encontrada em nossas análises microscópicas de café em pó. Acreditamos ser impraticável o seu aproveitamento na fraude do café por se tratar de planta cultivada em pequena escala entre nós, porém não achamos impossível a sua utilização para êsse fim.

A popularidade internacional da chicória poderá despertar o interêsse de sua aplicação, em dias vindouros, por curiosos torradores patricios ou por nostálgicos apreciadores estrangeiros do café-chicória, integrados no rol dos produtores de café em pó de nosso Estado.

Por esta razão, foi a chicória, excepcionalmente, incluída na relação das substâncias aqui estudadas como as preferidas para fraudar o café em pó exposto à venda no Estado de S. Paulo e constatadas em exames microscópicos pela Secção de Microscopia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz.

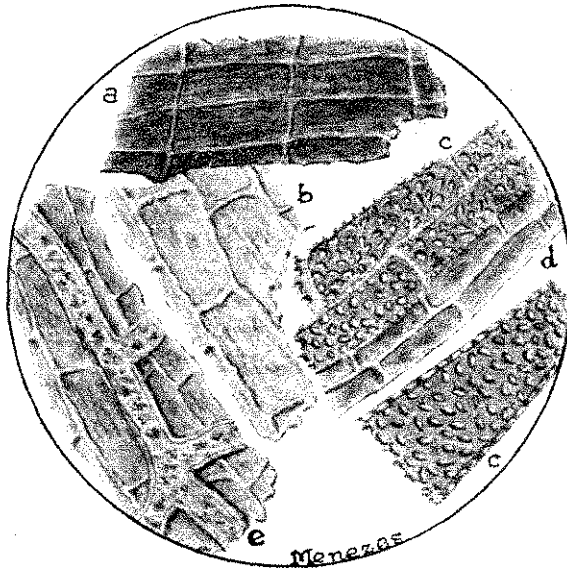


Fig. 10 — Elementos histológicos da raiz de chicória torrada — 400 x (original).

- a) Suber, de células retangulares dispostas em fileira ;
- b) Parênquima cortical, de células retangulares, de paredes grossas ;
- c) Vasos típicos, pontuados e grandes ;
- d) Células companheiras ;
- e) Vasos lactíferos.

R E S U M O

No presente trabalho, o autor faz considerações sobre a fraude do café em todos os recantos do Globo e em todas as épocas. Cita as modalidades de fraude do café em grão e em pó e, bem assim, os meios para as reconhecer.

Refere-se ao problema da casca do café como principal substância na fraude do produto industrializado dos países cafeicultores e ao "Método microscópico para contagem de cascas no café em pó", estudado na Seção de Microscopia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz, que possibilitou a extinção desta fraude na Capital paulista e a sensível melhora do produto no interior do Estado.

Faz um estudo químico e microscópico do café em pó para a determinação das fraudes, baseado em análises de rotina do Instituto Adolfo Lutz e sugere a inclusão de algumas necessárias exigências no nosso futuro Código Bromatológico.

Menciona os sucedâneos do café permitidos e usados em várias nações e a relação constante do Decreto-lei n.º 1.996 de 1-2-40, que proíbe, taxativamente, o uso de tais substâncias em todo o território brasileiro.

Trata, de um modo especial, do exame microscópico do café e das substâncias geralmente utilizadas na fraude do produto entregue ao consumo público, no Estado de S. Paulo.

Apresenta uma série de desenhos originais, de sua autoria, nos quais a substância estudada tem os seus elementos histológicos mais característicos, reunidos em um só campo microscópico, com o aumento de 400 x e faz, com os necessários esclarecimentos, a sua respectiva descrição.

Espera, com a apresentação deste trabalho, ter contribuído com uma parcela mínima de luz aos inúmeros problemas bromatológicos da rubiácea, que ainda aguardam solução e que, na terra líder da produção mundial do café, deviam já estar atualizados para atender às constantes consultas recebidas por parte de interessados, não só de Estados brasileiros, como de vários países sul-americanos e de outros continentes.

SUMMARY

In the present paper, the author makes considerations about the coffee fraud existing everywhere and at all times. He mentions the modalities of fraud of coffee in grain and in powder, and also the means to recognise them.

The author refers to the coffee peel as the principal substance in the fraud of the industrialized product from the coffee of the cultivating countries, and also to the "Método microscópico para a contagem de cascas no café em pó", studied in the "Secção de Microscopia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz", that made possible the extinction of this fraud in the Capital of São Paulo and resulted in a remarkable improvement of the quality of the product in the interior of the country.

The author makes a chemical and microscopic study of coffee in powder for the determination of the frauds, based on the usual analysis made at the "Instituto Adolfo Lutz" and suggests the inclusion of some necessary exigencies in our future Bromatological Code.

He mentions some substitutes for coffee which are permitted and used in various countries and the frequent relation to the "Decreto-lei n.º 1996 de 1-2-40", which forbids the use of those substances in the whole Brazilian territory.

He deals, in a special way, with the microscopic test of coffee and the substances generally used in the fraud of the product delivered to the public in the State of São Paulo.

There are presented a series of original drawings, made by the author, in which the substance studied in this paper presents its more characteristic histological elements combined in only one microscopic field, increased 400 times, and gives, with the necessary explanations, the corresponding description.

The author hopes, in presenting this work, to have contributed, in a small part, to decrease the numerous bromatological problems of this rubiaceae cultivated in São Paulo, Brazil.

BIBLIOGRAFIA

- BARROS, L. A. A. — *Compêndio de botânica geral e sistemática*. S. Paulo, Editora Clássico-Científica, 1944.
- BRETEAU, P. — *Guide pratique des falsifications et altérations des substances alimentaires*. Paris, Baillière, 1907.
- COLLIN, E. — *Précis de matière médicale*. 2. ed. Paris, Octave Doin, 1908.
- HÉRAIL, J. — *Traité de matière médicale. Pharmacographie*. 3.ed. Paris, Baillière, 1927.
- JOHNSON, H. L. — 1935 — *Processo científico de coar café*. *Rev. Inst. Café* (São Paulo) 10 (107) : 2608-2612.

- MACÉ, E. — Les substances alimentaires. Paris, Baillièrè, 1891.
- MENEZES JR., J. B. F. — 1946 — Investigações sôbre alterações da estrutura vegetal pela ação do calor. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 6 : 183-192.
- MENEZES JR., J. B. F. — 1950 — Do exame microscópico nas fraudes do café. *Bol. Sup. Serv. Café (Secr. Faz.)* 25 (275) : 5-7.
- MENEZES JR., J. B. F. e B. A. A. BICUDO — Sôbre um método microscópico para contagem de cascas no café em pó. São Paulo, Superintendência dos Serviços do Café, 1950. 31p.
- MENEZES JR., J. B. F. e B. A. A. BICUDO — 1951 — Sôbre um método microscópico para contagem de cascas no café em pó. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 11 : 13-47.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ — Métodos de análises bromatológicas : Análises químicas. São Paulo, Rev. Tribunais, 1951.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ — Paradigmas de análises. São Paulo, Imprensa Oficial, 1951. 55p.
- PAULA, R. D. G. — Estado atual da química do café. Estudos médicos sôbre o café. Rio de Janeiro, Dep. Nac. do Café, 1944 ; p. 85-113.
- PELLERIN, G. — Guide pratique de l'expert chimiste en denrées alimentaires. 2.ed. Paris, Maloine, 1910.
- SERVIÇO DE POLICIAMENTO DA ALIMENTAÇÃO PÚBLICA — Decreto-Lei n.º 15.642 de 9 de fevereiro de 1946. São Paulo, Imprensa Oficial, 1946.
- ROSA MATO, F. e G. M. CALDEVILLA — El café y sus adulteraciones. Montevideo, Rosgal, 1937.
- SCHNEIDER, A. — The microbiology and microanalysis of foods. Philadelphia, Blakiston, 1920.
- SCHULTZ, A. R. — Introdução ao estudo da Botânica sistemática. Pôrto Alegre, Globo, 1939.
- UKERS, W. H. — All about coffee. 2.ed. New York, The Tea & Coffee Trade Journal, 1935.
- TOBIAS NETO — Subsídios à História da Bromatologia. Bahia, Tip. Naval, 1946.
- WINTON, A. L. e K. B. WINTON — The structure and composition of foods. New York, John Wiley, 1939. vol. 4.
- YOUNGKEN, H. W. — Text-book of Pharmacognosy. 5.ed. Philadelphia, Blakiston, 1993.

O LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO NA MOLÉSTIA DE WEIL.

por

J. M. TAQUES BITTENCOURT

*Médico-chefe da Secção de líquido cefalorraquidiano
do Laboratório Central do Hospital das Clínicas*

TOSHYASU FUJIOKA

JOÃO TRANCHESI

MARCELO OSWALDO ÁLVARES CORRÊA

Médico do Instituto Adolfo Lutz

BERNARDO BEDRIKOW

Médicos Do Hospital das Clínicas

1 — GENERALIDADES

Dentre as leptospiroses que acometem o homem, especial projeção cabe à Moléstia de Weil, pelo seu carácter cosmopolita e elevada taxa de incidência. Seu agente etiológico, a *Leptospira ictero-hemorrhagix*, tem como reservatório natural o rato, que a elimina pela urina; entrando o homem em contacto com o ambiente contaminado por êsse dejecto, processa-se a infecção, a qual raramente se faz através da mordida do animal. Compreende-se, assim, a importância da profissão e das condições de higiene da habitação como factores que condicionam a contaminação humana.

A moléstia, que, em 90% dos casos, incide em homens dos 10 aos 40 anos de idade, após 7 a 10 dias de incubação, instala-se bruscamente, com quadro septicêmico, em que predominam como factores constantes cefaléia frontal, prostração, temperatura elevada, dores musculares generalizadas, particularmente acentuadas ao nível das panturrilhas, congestão vascular intensa das escleróticas e vômitos repetidos. Com menor frequência somam-se distúrbios intestinais, tosse com expectoração às vêzes hemoptóicas (forma broncopneumônica), petéquias esparsas no tronco e membros e rigidez de nuca traduzindo acometimento meníngeo.

Nesta fase septicêmica, a leptospira encontra-se no sangue circulante, o que é demonstrado pelo seu achado ao exame em campo escuro, pela hemocultura e pela inoculação em cobaia.

Ao redor do 6.º dia, surge a icterícia, encontradiça em 60% dos casos. Mantendo-se elevada a temperatura, aparece a hepatomegalia, muitas vêzes acompanhada de discreto aumento do baço, o estado geral apresenta-se sensivelmente pior, aparecem sinais de insuficiência renal — oligúria ou

anúria e retenção azotada — e aumenta a tendência à hemorragia, quando, então, ocorrem as epistaxis e gengivorragias, que constituem sinais de prognóstico sombrio. Nesta fase tóxica ou icterica, desaparecem as leptospiras do sangue, inicia-se sua eliminação pela urina, entram em ação os mecanismos imunitários, aumentando progressivamente o teor de lisinas e aglutininas circulantes cujo nível crítico de valor diagnóstico está ao redor de 1:200.

A insuficiência renal isolada ou combinada com insuficiência hepática, a toxemia e infecções intercorrentes são as causas de morte que, em média, ocorrem em 30% dos casos. É interessante assinalar que a mortalidade é quase nula nos casos anictéricos. Do 15.º ao 20.º dia de moléstia, inicia-se a convalescença, que evolui lentamente, às vezes com recidiva. Os dados clínicos e epidemiológicos associados à pesquisa direta em campo escuro, cultura e inoculação em cobaia do sangue e urina suspeitos e o elevado título de aglutininas no sangue permitem o diagnóstico exato da moléstia de Weil.

O sistema nervoso pode ser atingido pela moléstia, o que ocorre nos primeiros dias, na fase septicêmica. Penetrando no organismo por alguma solução de continuidade da pele ou mesmo pelas mucosas normais íntegras, a leptospira localiza-se nos tecidos e posteriormente atinge, com facilidade, a corrente sangüínea. A porta de entrada da infecção parece ter importância capital sobre o advento das formas clínicas, como acontece na poliomielite. As formas meníngeas são mais freqüentes quando o penetração da leptospira se faz pelas mucosas da face: saco conjuntival, boca e nariz (MOLLARET e ERBER, 1935 e VAN THIEL, 1948). Têm ainda importância fatores pouco conhecidos, designados pelo nome de neurotropismo.

2. MENINGITE LEPTOSPIRÓTICA E SÍNDROME LIQUÓRICA CORRESPONDENTE

O primeiro caso de meningite leptospirótica foi relatado por LAUBRY e PARVU (1910), que descreveram 3 casos de meningite linfocitária atípica em pacientes ictericos, cujo quadro clínico era idêntico ao da moléstia de Weil. Uma semana depois, GUILLAIN e RICHET (1910) relataram 4 casos ocorridos como os anteriores, durante uma epidemia em Paris e, como aquêles, reconhecíveis retrospectivamente como devidos à infecção leptospirótica. Estes autores, ignorando a etiologia do processo, relacionaram a meningite à icterícia, julgando-as sintomas componentes de uma só entidade mórbida. Seis anos depois, descoberta por Inada a etiologia da moléstia, COSTA e TROISIER (1916) demonstraram ser a *Leptospira ictero-hemorrhagiae* o agente causal da meningite ocorrida em ictericos e que a forma meníngea da leptospirose pode advir mesmo em pacientes sem icterícia.

Em trabalhos sucessivos, COSTA e TROISIÈR (1917-1918) estudaram as reações liquóricas, encontrando sinais meníngeos em 90% dos casos de moléstia de Weil. O líquido cefalorraquidiano se mostrou tão virulento ou mesmo mais que o sangue, com período de incubação mais curto. Nas formas ictéricas havia 60% de inoculações positivas, sendo ainda maior a percentagem nos casos anictéricos. Eram freqüentes as alterações citológicas e químicas. Observaram que, excluindo os primeiros dias de moléstia, havia ligeira hiperцитose liquórica e que o líquido era, nos casos anictéricos, límpido e incolor ou ligeiramente turvo, enquanto que se tingia de amarelo nos casos com icterícia. A reação citológica não era intensa, oscilando de 20 a 400 células, variando a fórmula leucocitária conforme a fase da moléstia: a partir do 4.º dia, ocorria o rápido aumento do número de leucócitos com predomínio percentual de polimorfonucleares neutrófilos (50 a 90%). Após uma semana, a hiperцитose decrescia e a fórmula citológica tendia para a linfocitose, que se tornava exclusiva a partir do 12.º dia.

Todavia, nas formas anictéricas havia predominância dos linfócitos na fórmula leucocitária, ao contrário, pois, do que ocorria nas formas ictéricas em que o afluxo de polinucleares precedia ao de linfócitos.

As proteínas totais apresentavam-se sempre aumentadas, mas raramente ultrapassavam a taxa de 0,60 a 0,70 gr por litro.

As curvas da hiperцитose e da proteínoorraquia eram paralelas, decrescendo a taxa de proteínas totais à medida que a fórmula citológica se modificava da polinucleose para a linfocitose.

Havia aumento da taxa de glicose, em redor de 0,80 a 0,90 gr por litro, tendo sido observada a taxa de 2 gr por litro, ao passo que a taxa de cloretos era quase sempre normal ou mesmo um pouco diminuída.

A taxa de uréia estava quase constantemente aumentada, havendo casos com 4 gr por litro, porém oscilando, em média, em torno de 1 gr por litro.

Na segunda fase da moléstia, apareciam, no líquido, os anticorpos — aglutininas e lisinas — sempre em quantidade bem menor que a existente no sangue (1:30.000 no sangue para 1:200 no líquido).

Em trabalho experimental em macacos, foram encontradas taxas de 1:100 no 9.º dia; 1:10.000 no 11.º dia; 1:50.000 no 17.º dia e 1:1.000 no 59.º dia e 1:500 no 127.º dia. Na fase final da moléstia, devido a lenta eliminação desses anticorpos do líquido, invertia-se a relação. Também a leptospira foi mais facilmente encontrável no líquido na forma ictérica, uma vez que, na forma anictérica, nunca foi encontrado. Foi demonstrada evidente relação entre a percentagem de polimorfonucleares e a virulência liquórica.

Após estes trabalhos, os médicos europeus passaram a conhecer melhor as formas meníngeas e um número crescente de casos foi relatado na França: TROISIÈR e BOUQUIEN (1933) e na Holanda e Inglaterra: BUZZARD e

WYLIE (1947). WALCH-SORGDRAGER (1939), ao fazer uma revisão do assunto para a Liga das Nações, baseado, principalmente, em 327 casos diagnosticados bacterio e sorologicamente no Instituto de Higiene Tropical de Amsterdam, dos quais 129 anictéricos e 21 meníngeos, aconselha pensar em meningite leptospirótica — nome por êle proposto — em todos os casos de meningite serosa. Salienta, ademais, que, em alguns casos, estão ausentes os sinais clínicos da moléstia de Weil, principalmente quando há possibilidade de infecção pela *Leptospira canicola*, a qual produz com maior frequência meningite, uma vez que possui neurotropismo mais acentuado que a *Leptospira ictero-hemorrhagiae*. HAUNZ e CARDY (1952) transcrevem uma tabela em que Rosemberg analisa a frequência de manifestações na febre canícola em cerca de 100 casos, na qual os sinais meníngeos ocorrem em 48% e as alterações do liquor em 42% dos casos compilados. Na Inglaterra, em cerca de 10% dos casos relatados até 1939, havia evidência clínica e laboratorial de meningite.

Os casos de meningite leptospirótica pura constituem uma pequena parcela em relação aos casos de moléstia de Weil com icterícia. As formas puras aparecem quando a moléstia se detém no período bacterêmico e dependem provavelmente da porta de entrada da infecção.

Em 1944 e 1945, Gsell demonstrou que a “doença dos porquinhos” ou “meningite dos porquinhos”, como era designada em Suíça, nada mais era que uma leptospirose benigna em cujo quadro clínico predominava uma meningite serosa e cujo agente etiológico era a *L. pomona*.

Um caso de meningite leptospirótica crônica foi relatado por MURGATROYDE (1937), no qual a febre persistiu por nove meses, sendo que a icterícia adveio quatro meses após o início da moléstia. Seis meses depois de todos os sintomas terem desaparecido, foi observada a primeira evidência de invasão meníngea.

Outros distúrbios neurológicos foram descritos (BUZZARD e WYLIE, 1947) tais como formas neuríticas, principalmente relacionadas com o nervo ótico e que costumam aparecer na 3.^a semana; assumem a forma de perineurite, produzindo distúrbios visuais, porém não deixam seqüelas por ser a inflamação localizada na meninge e no tecido perineural e não no nervo propriamente dito. As vezes, a esta sintomatologia junta-se sufusão hemorrágica do fundo ocular. Neurite braquial, ciática, paralisia isolada do abducente, polineurite e mielite foram descritos, assim como distúrbios psíquicos e fenômenos dolorosos de tipo reumatismal. BEESON, HANKEY e COOPER (1951) confirmaram o que Gsell demonstrara previamente, isto é, que a uveíte e a iridociclite podem ocorrer como seqüelas tardias de leptospiroses.

A histopatologia das lesões do sistema nervoso central é pouco conhecida. Presume-se que a *L. ictero-hemorrhagiae* esteja presente nas meninges,

como foi evidenciado em um caso por KANEKO e OKUDA (1917). A falta de proliferação da leptospira na meninge pode explicar a evolução favorável e a síndrome meníngea benigna que se observa na maioria dos casos, ainda que se tenha podido, injetando diretamente a leptospira nas meninges de cobaias, produzir extensas e graves meningites. Na meninge afetada, observa-se infiltrado celular de linfócitos e plasmócitos. O epêndima se encontra com coloração icterícia devido aos processos inflamatório e tóxico que permitem passagem de pigmento do sangue para o líquido, conforme acentua DRÄGERT (1934). Estes processos causam distúrbios locais do suprimento sanguíneo, originando anemia e conseqüente degeneração das células nervosas.

O líquido cefalorraquidiano espelha estes processos meníngeos. Na fase septicêmica, a *L. ictero-hemorrhagiae* penetra na meninge, aparecendo sintomas meníngeos por volta do 4.º dia de moléstia. O líquido se mostra sob tensão levemente aumentada. Há hipercitose que varia de 6 a 3.000 células por mm³ — em média 100 — com predominância de polimorfonucleares neutrófilos, evidenciando a fase aguda. O ápice da hipercitose ocorre do 5.º ao 9.º dia. Do 1.º ao 4.º dia, não existe reação citológica ou ela é discreta; do 5.º ao 14.º dia, é freqüente o achado de 200 a 300 elementos; depois do 15.º dia, o número de células cai para menos de 75 por ml. Existe relativa concordância entre a hipercitose e o grau de reação meníngea; contudo é grande a variação da citologia em dias sucessivos.

Via de regra, há formação de uma leve película no líquido parecida com aquela encontrada no líquido dos micóticos e tuberculosos, o diagnóstico diferencial se fazendo pelo achado do agente etiológico ao exame direto ou inoculação em cobaia e ainda com a tuberculose, pela taxa de cloretos e glicose que é normal ou aumentada na moléstia de Weil. Há moderada hiperproteinorraquia com reações do limiar das globulinas positivas. O quadro líquido aproxima-se, pois, daquele da coriomeningite linfocitária benigna.

Na fase icterícia ou tóxica, o líquido se tingem xantocrômicamente. Nos casos anictéricos, o líquido é incolor. A xantocromia está presente em 90% dos casos icterícios, sendo, além da hipercitose, o único sinal positivo que, no entender de CARGYLL e BEESON (1947), ocorreu com freqüência suficiente para ter significação diagnóstica. A cor amarela varia desde o citrino até o ouro, dependendo da intensidade da icterícia. O líquido cefalorraquidiano de pacientes com outras moléstias nas quais a icterícia existe não se cora a não ser quando a icterícia é severa e, mesmo assim, após longo tempo. Os mesmos autores referem que um caso de moléstia de Weil com índice icterício no sêro de 27 apresentava líquido xantocrômico, enquanto outro caso de atresia congênita do ducto biliar, apesar de apresentar índice icterício

no sôro de 150, o líquido era límpido e incolor. A côr xantocrômica no líquido de pacientes com icterícia leve faz pensar em moléstia de Weil.

Nesta segunda fase da moléstia, a hipercitose diminui e sua fórmula se modifica, tendendo para a linfocitose. Começam aparecer aglutininas e lisinas em concentração muito menor que a do sangue, proporção esta que só se inverte na fase final da moléstia, devido à eliminação mais rápida dos anticorpos sangüíneos. Neste período final, o exame líquido oferece maior oportunidade diagnóstica que as sôro-reações; contudo, as aglutininas do líquido raramente atingem título maior que 1:100. Na convalescença o líquido torna-se límpido e incolor, normalizando-se. O fato de ter sido, em alguns casos, dosável a bilirrubina e ter sido positiva a reação de van den Bergh, demonstra que a barreira hemoliquórica se rompe, tornando-se mais permeável e permitindo a passagem desse elemento.

As reações coloidais têm-se mostrado negativas, a não ser em dois casos em que houve curva meningítica e em um outro parenquimatososa. A reação de Wassermann tem dado resultados negativos nos casos em que não exista neuro-lues; contudo, Martin e Pettit, citados por TROISIER e BOUQUIEN (1933), mostraram que o sôro de sífilítico fixa-se em presença de antígeno leptospirótico. Este fato impõe maior cuidado na interpretação e feitura das reações de fixação de complemento na moléstia de Weil. Nas recaídas, freqüentes na moléstia de Weil, existe nova exacerbação do quadro líquido, com os característicos descritos acima.

O líquido pode estar alterado mesmo na ausência de sinais meníngeos. CARGYLL e BEESON (1947) reuniram 92 casos de moléstia de Weil relatados por 10 autores, dos quais 78 (86%) apresentavam líquido alterado, enquanto que só 38 casos dessa série (41%) apresentavam sinais clínicos de meningite. A freqüência da meningite leptospirótica só poderá ser reconhecida quando o exame do líquido for realizado sistematicamente em todos os casos com ou sem manifestações meníngeas. Nessa compilação, a xantocromia estava presente em 90% dos casos ictericos; a hipercitose, em 87%; a hipertensão, em 51%; a hiperproteinorraquia, em 50% e as alterações das curvas coloidais, em 22%.

COWDEN, OWNBY e ISHAM (1952) acentuam o fato de, na literatura recente, apenas CARGYLL e BEESON (1947) salientarem a importância diagnóstica da xantocromia do líquido. Relatam, a seguir, 4 casos de leptospirose, todos com líquido xantocrômico, minuciosamente estudados.

BEESON e HANKEY (1952) realizaram a pesquisa sistemática de infecção leptospirótica em 35 pacientes admitidos ao Grady Hospital, Atlanta, U. S. A., com o quadro clínico de "meningite asséptica benigna", encontrando 7 casos de origem leptospirótica. Em cerca de 500 soros provenientes de vários hospitais e laboratórios e pertencentes a pacientes suspeitos de infecção por vírus neurotrópico, obtiveram reações positivas em 17 amostras.

Dêsses fatos decorre a importância do exame líquórico : é o meio mais seguro de evidenciar a existência de lesão meníngea e pode ser utilizado, inclusive para diagnóstico, porquanto não existe teste satisfatório para o diagnóstico da moléstia de Weil que seja de fácil execução e forneça resultado urgente, com exceção da sôro-aglutinação. Todavia nenhum dos processos diagnósticos é inteiramente satisfatório quando tomado isoladamente. A demonstração de leptospira no sangue só é possível durante os primeiros dias de doença e em mãos não habilitadas pode oferecer falsos resultados positivos. A inoculação em cobaia com sangue e urina só é positiva em certos períodos da moléstia e o processo requer tempo e experiência. O teste de aglutinação requer um bom antígeno — culturas bem ricas de leptospira, o que não se encontra facilmente em laboratórios — e os anticorpos podem não ser demonstráveis até fase posterior da moléstia. A biópsia de músculo estriado revela lesões características em muitos casos e pode ser de considerável ajuda no diagnóstico. O exame líquórico seria um dado a mais no conjunto diagnóstico, pois a alta freqüência de sua alteração e o quadro mais ou menos uniforme da mesma pode orientar o clínico na elucidação do caso.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foi com o interesse de chamar a atenção sobre a freqüência da complicação meníngea e do valor do exame do líquor, quer para evidenciar essa complicação, como para coadjuvar no diagnóstico de moléstia de Weil — que dia a dia é feito com maior segurança e cujo número vem crescendo continuamente — que acreditamos ser de utilidade uma atualização sobre o tema, como a que expusemos acima, e o relato de 20 casos que, de 1947 a 1951, tivemos a oportunidade de observar clinicamente e de examinar o líquido cefalorraquidiano no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Estes casos foram observados no Pronto Socorro e nas várias enfermarias de Clínica Médica.

O diagnóstico de leptospirose dêstes 20 casos — sendo um de febre canícola e 19 de moléstia de Weil — se fundamentou em reações de sôro-aglutinação, efetuadas no Instituto Adolfo Lutz, em geral com títulos progressivamente ascendentes, dos quais figura no quadro o valor mais elevado. Em dois casos (A. N. e S. J. S.), a inoculação em cobaia foi positiva, tendo sido isoladas cêpas de *Leptospira ictero-hemorrhagiae*. O caso de febre canícola humana foi objeto de publicação anterior (CORREIA e MEIRA, 1949), tendo sido focalizadas as alterações líquóricas verificadas, apesar da inexistência no paciente (N. D. O.) de sinais e sintomas meníngeos.

Em todos os 20 casos, os dados clínicos e de laboratório se enquadravam perfeitamente nos moldes clássicos da moléstia de Weil.

Os pacientes, todos do sexo masculino, entre 15 a 45 anos de idade, apresentavam sinais clínicos gerais bastante intensos: icterícia (20); febre e dores musculares (19); cefaléia (18); fenômenos hemorrágicos (14); vômitos (13); oligúria (11) e anúria (4). Se prescindirmos da cefaléia e dos vômitos, nenhum outro sinal havia de reação meníngea, apesar de pesquisados com cuidado e insistência em todos os pacientes. Em um paciente observamos convulsões de tipo comicial.

Relatamos, no quadro anexo, alguns dos exames realizados com o sangue dos pacientes — índice icterico, dosagem da bilirrubina direta e indireta, das proteínas e suas frações, da uréia, reações de Wassermann e Kahn, inoculação e soro-aglutinação — com o intuito de serem seus resultados comparados com aqueles obtidos no exame do líquido.

Fizemos 27 exames liquóricos nos 20 pacientes examinados, todos colhidos por punção sub-occipital em decúbito lateral e realizados do 4.º ao 37.º dia de enfermidade. O exame consistiu em medida da pressão em cm^3 de água (manômetro de Claude), verificação das propriedades físicas, índice icterico, exame citológico quantitativo e qualitativo, dosagem das proteínas totais, dos eloretos, da glicose, da uréia e da bilirrubina total, reações do limiar de globulinas, reações coloidais de benjoin e de Takata-Ara, pesquisa de pigmentos biliares, reações de Wassermann, Steinfeld, Weinberg, Eagle e Meinicke, exame bacterioscópico, inoculação em cobaia e titulação das aglutininas.

4 — RESULTADOS E COMENTÁRIOS

Não encontramos aumento da pressão liquórica nos casos por nós examinados; pelo contrário, evidenciamos hipotensão em 6 casos. A menor pressão obtida foi de 2 cm^3 em um caso, seguida de 4 cm^3 em três casos e 6 cm^3 em três casos. A maior pressão encontrada foi de 14 cm^3 . A nossa experiência, neste particular, está em contradição com a relatada por CARGYLL e BEESON (1947), que, em 43 pacientes puncionados, encontraram 22 hipertensos (51)%. Estes mesmos autores descrevem hipertensões de 34 cm^3 de água. Hipertensão é ainda referida como freqüente por TROISIER e BOUQUIEN (1933), VAN THIEL (1948) e BUZZARD e WYLIE (1947).

Em todos os nossos casos havia xantocromia do líquido e a intensidade da coloração não estava em relação com o índice icterico sangüíneo, pois a um sangue com índice icterico igual a 104 correspondia um líquido com índice icterico igual a 0,5, enquanto a outro sangue com índice icterico igual a 42 correspondia um líquido com índice icterico igual a 2.

Os exames realizados por nós em que não foi evidenciada xantocromia foram colhidos tardiamente do 26º ao 34º dia de moléstia em casos de evo-

lução favorável, quando os pacientes estavam em franca regressão. Nesses casos (n.º 9 J. P., n.º 17 A. G. e n.º 18 O. C.) foram realizados diversos exames líquóricos, desde o 7º ao 37º dias de evolução, nos quais pôde-se acompanhar o decréscimo da coloração amarela que, de evidente nos primeiros exames, diminuiu nos seguintes, para desaparecer completamente no último. Fato de grande importância é a constância do achado do líquido xantocrômico que, nos casos de Weil, é intensa e precoce. CARGYLL e BEESON (1947) a encontraram em 90% dos casos com icterícia e CLASPER e MYERS (1943), em 13 casos relatados, a consignaram em 12. Nos ictericos devidos a outras causas, só se encontra xantocromia no líquido cefalorraquidiano, quando é muito intenso o grau de icterícia no organismo e, mesmo assim, só depois de muito tempo de evolução da moléstia. A constância, intensidade e precocidade da icterícia na moléstia de Weil é um dado de importância, podendo ser usado como meio diagnóstico da enfermidade. A tonalidade da xantocromia devida à moléstia de Weil aproxima-se do amarelo-canário, tendendo para o amarelo-esverdeado, enquanto que aquela encontrada nos líquidos cefalorraquidianos de pacientes que sofreram hemorragias intracranianas ou compressões do sistema nervoso central têm tonalidade levemente avermelhada.

Ao espectógrafo, observa-se, nestes últimos casos, absorção luminosa na raia da hemoglobina e substâncias oriundas de sua desintegração direta, enquanto que, na moléstia de Weil, a absorção luminosa se processa na raia da bilirrubina.

A xantocromia líquórica observada nesta enfermidade é devida à bilirrubina cuja penetração no líquido é resultante das alterações inflamatórias das meninges. A xantocromia líquórica na moléstia de Weil está em relação direta com o estado do paciente e não com o seu índice icterico sangüíneo, diminuindo e desaparecendo com a regressão da lesão meníngea. Considerando o mesmo paciente, ela concorda com a pleocitose líquórica.

Não observamos nenhum caso anictérico da moléstia de Weil, casos que os autores estrangeiros relatam atingir a 40% da totalidade dos casos de leptospirose. Merecem atenção esses casos que não foram ainda descritos entre nós; nêles não há xantocromia líquórica, mas estão presentes as demais alterações do líquido cefalorraquidiano. Constituem as formas meníngeas puras das leptospiroses e se manifestam sob a forma de leve irritação meníngea com líquido alterado no sentido da hipercitose. Em casos clínicos de irritação meníngea com líquido alterado sem etiologia clara, ocorridos no período de verão, em pacientes que estiveram em ambiente poluído por dejetos de ratos, deve-se pensar em leptospirose e fazer as provas sorológicas indicadas para o diagnóstico. Na meningite leptospirótica por *Leptospira ictero-hemorrhagix*, Troisier considera uma forma meningítica

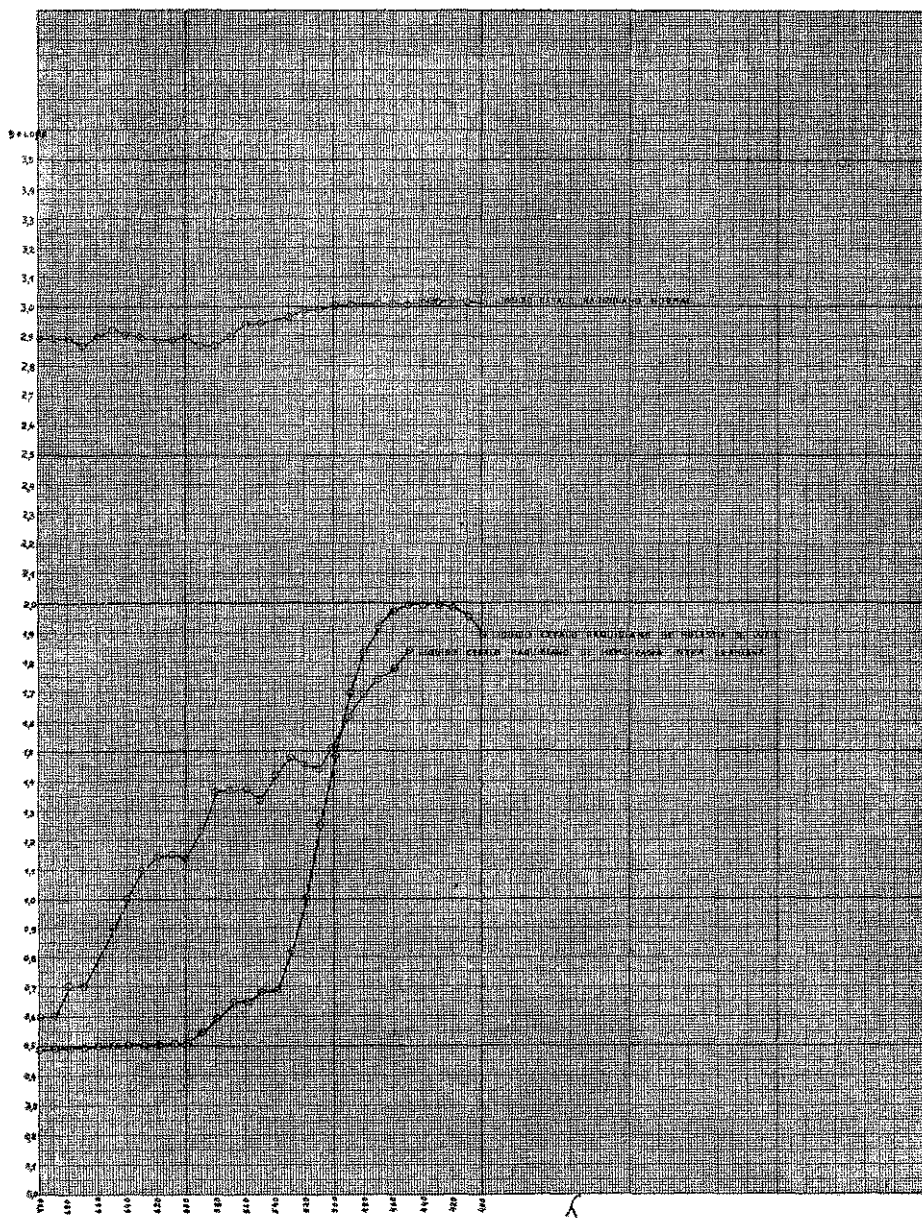


Fig. 1

IDENTIFICAÇÃO *				SINTOMATOLOGIA CLÍNICA								EXAMES NO SANGUE **							
N.º	Nome	Registro	Idade anos	Febre	Dores muscul.	Icterícia	Fenom. Hemorrag.	Oligúria	Anúria	Cefaléia	Vômitos	Rigidez da nuca, Kernig e Brudzinski	Índice icterício	Bilirrub. Direta Indireta	Proteínas Albumina Globulina	Uréia mg/100 ml	Wassermann e Kahn	Inoculação em cobaio	Aglutinação (título mais alto)
1	J.F.J.	45.405	28	++++	++++	+++	++ Epistaxis	+++	—	++++	+++	—	12	2.4 1.4	3.8 1.3	34	Negativa	Negativa	1:4.480
2	E.S.	51.309	19	++++	++++	++++	—	+++	—	++++	++++	—	53	19.0 9.8	3.2 4.1	253	Positiva	Negativa	1:46.080
3	J.C.	51.976	34	+++	+++	+++	+ Petéquias	++++	++ 48 h	++++	++++	—	50	8.7 3.3	3.6 2.9	101	Negativa	Negativa	1:46.080
4	L.F.	52.048	44	++++	++++	++++	+ Petéquias	++++	++ 48 h	++++	—	—	96	17.4 8.3	4.6 2.5	418	Negativa	Negativa	1:35.840
5	B.S.	52.240	27	++++	++++	++++	—	—	—	++++	++++	—	104	19.2 7.0	3.1 3.0	291	Positiva	Negativa	1:5.760
6	E.L.	68.725	16	—	—	+	—	—	—	—	+	—		2.6 2.0	4.2 2.5	44	Negativa		1:2.240
7	J.S.	74.979	33	+	+++	++	—	—	—	+++	—	—	42	2.2 1.4	3.1 4.0	58	Negativa	Negativa	1:1.120
8	J.B.L.	80.008	45	++++	++++	++++	++++	+++	—	—	—	—	110	26.6 6.2	3.9 3.0	591	Negativa	Negativa	1:1.120
9	J.P.	80.320	27	++++	++++	+++	++	—	—	++++	—	—	58	13.0 5.2	3.8 3.0	41	Negativa	Negativa	1:1.160
10	N.D.O.	80.333	21	+	+++	++	—	—	—	+++	—	—	42	2.2 1.4	3.1 4.0	109	Negativa	Negativa	1:4.480 L. caufcula
11	A.N.	80.450	43	++++	++++	++++	++	++++	++ 48 h	++++	—	—	53	12.6 5.6			Negativa	Positiva L. ict. hem.	1:280
12	B.B.	126.926	35	++++	++++	++++	++	+	—	++++	+	—	276	27.2 13.6	3.2 2.4	219	Negativa	Negativa	1:1.440
13	M.A.	127.643	28	+++	++++	++++	+++	+++	++ 48 h	++++	+++	—	146	28.8 11.6	4.6 1.9	369	Negativa	Negativa	1:1.120
14	S.A.	128.292	19	+++	+++	++++	+++	—	—	++++	+++	—	112	12.9 4.3	3.9 1.9	37	Negativa	Negativa	1:1.120
15	S.J.S.	163.160	33	++++	++++	++++	++++	+++	—	++++	++++	—		7.6 3.2		159	Negativa	Positiva L. ict. hem.	0
16	B.S.P.	252.167	21	++++	++++	++++	+++	—	—	++++	++++	—		11.5 2.7	6.4 4.1	67	Negativa	Negativa	1:1.120
17	A.G.	260.129	39	++++	++++	++++	—	—	—	++++	++++	—		2.4 0.7	10.6 5.5	36	Negativa	Negativa	1:8.960
18	O.C.	161.659	18	+++	++++	++++	+++	++	—	++++	++++	—	138	15.4 5.3	6 4.2	351	Negativa	Negativa	1:1.120
19	A.D.	217.804	17	++++	++++	++++	+	—	—	++++	++++	—		28.5 13.5	7.2 4.9	72	Negativa	Negativa	1:720
20	J.M.F.	211.686	41	++++	++++	++++	+	+++	—	++	++	—		43.4 7.8	7.4 4.6	252	Negativa	Negativa	1:7.960

* Todos os pacientes do sexo masculino.

** Semeadura negativa em todos os casos.

*** Obtido sempre por punção suboccipital em decúbito lateral, tendo sido sempre negativas a pesquisa direta e a inoculação do germe, a pesquisa de pigmentos biliares e as reações de Wassermann, Steinfeld, Weinberg, Eagle e Meinicke.

EXAMES NO LÍQUIDO CÉFALORRAQUIDIANO ***

Data em dias de moléstia	Pressão	Propriedades físicas	Índice icterico	Citologia Quantitativa	% em células mononucleares	Proteínas totais	Cloretos mg por 100 ml	Glicose mg por 100 ml	Uréia mg	Bilirrub. por 100 ml	Pandy Nonne	Benjoim	Takata Ara	Aglutinação	Evolução	OBSERVAÇÕES
18°	14	Límpido, levemente xantocrômico	0.5	6	100%	20	690	32	33	0.09	Opalesc.	00000.12221.00000.0	Negativa		Cura	
5°	10	Límpido, levemente xantocrômico	0.5	0.5	100%	10					Negativa	00000.00000.00000.0	Negativa		Cura	
13°	12	Límpido, levemente xantocrômico	0.5	0.0		20					Positiva	00122.22210.00000.0	Positiva	Negativa	Cura	
16°	10	Límpido, levemente xantocrômico	0.5	0.0		10	700	85			Negativa	00000.00000.00000.0	Negativa	1:140	Cura	
14°	4	Límpido, levemente xantocrômico	0.5	0.0		10	680	64			Negativa	00000.02200.00000.0	Negativa		Cura	
25°	10	Límpido, levemente xantocrômico	0.5	0.0		20	730			0.01	Negativa	00000.22100.00000.0	Negativa	1:140	Cura	
9°	12	Límpido xantocrômico	2.0	28.0	91%	40	720	65		0.40	Positiva	0.1210.1221.00000.0	Positiva	1:360	Cura	
13°	12	Límpido xantocr.	1.0	38.3	92%	40	700	101		0.15	Positiva	00012.22222.100000.0	Positiva	1:180	Faleceu	Confirm. necrose.
38°	10	Límp. lev. xantocr.	0.5	19.8	97%	20	680	54		0.05	Positiva	00000.12210.000000.0	Negativa			
7°	12	Límp. xantocr.	2.0	48.0	98%	20	730			0.40	Positiva	12221.12221.000000.0	Fort. posit.	1:180	Cura	
23°	10	Límp. lev. xant.	0.5	19.3	100%	15	720	60		0.04	Opalesc.	00000.12210.000000.0	Negativa			
36°	4	Límp. incolor	0.0	5.0	100%	15	740	52		0.0	Opalesc.	00000.22000.000000.0	Negativa			
10°	12	Límp. lev. xant.	0.3	120.0	88%	20	700			0.0	Opalesc.	01210.12100.000000.0	Positiva	Negativa	Cura	
6°	2	Límp. xantocr.	2.0	18.6	98%	35	680			0.25	Positiva	00000.12221.000000.0	Positiva	Negativa	Faleceu	Aortite lúética. Hemorragia focais nos vasos.
14°	8	Límp. xantocr.	3.0	2.0	100%	20	650	84	183	0.40	Opalesc.	01210.22222.100000.0	Positiva	Negativa	Faleceu	Edema e anemia do encéfalo Nada na leptomeninge.
13°	8	Límp. xantocr.	3.0	0.6	100%	40	730	113	252	0.20	Positiva	00000.12221.000000.0	Negativa	Negativa	Cura	
15°	6	Límp. xantocr.	1.7	0.3	100%	10	700	70	43	0.0	Negativa	00000.00000.000000.0	Negativa		Cura	
19°	6	Límp. lev. xant.	0.7	33.3	100%	15	690	75	27	0.0	Negativa	00000.02200.00000.0	Negativa			
6°	4	Límp. fortemente xantocr.	4.0	469.6	20%	40	730	92	336	0.20	Positiva	12222.22222.21000.0	Positiva		Faleceu	Conv. { congest. do encéfalo meningite aguda.
18°	14	Límp. levemente xantocr.	0.8	0		10	700	83	53	0.10	Negativa	00000.00000.00000.0	Negativa		Cura	
30°	12	Límp. lev. xant.	0.6	2	100%	15	710	78	25	0.20	Negativa	00000.00000.00000.0	Negativa			
37°	8	Límp. e incolor	0.0	0.6	100%	10	680	72	22	0.0	Negativa	00000.00000.00000.0	Negativa		Cura	
7°	8	Límp. fort. xant.	3.0	8	100%	15	720	75	393	0.30	Negativa	00000.02200.00000.0	Negativa			
12°	6	Límp. xantocr.	1.0	3.6	100%	15	730	92	148	0.10	Negativa	00000.02200.00000.0	Negativa			
17°	6	Límp. lev. xant.	0.5	5.0	100%	10	720	80	63	0.10	Negativa	00000.00000.00000.0	Negativa	Negativa	Cura	
26°	8	Límp. lev. xant.	0.0	6.6	100%	10	700	68	30	0.0	Negativa	00000.00000.00000.0	Negativa			
11°	10	Límp. lev. xant.	0.6	0		20	700	80	52	0.0	Negativa	00000.00000.00000.0			Cura	
6°	6	Límp. fort. xant.	5.0	0		25	690	153	222	0.30	Positiva	00000.12222.10000.0	Positiva	Negativa	Cura	

pura, anictérica, onde dominam os sintomas e sinais clínicos e os dados laboratoriais de uma meningite; uma forma meningo-subictérica, onde, ao lado da meningite, há subicterícia e sinais de comprometimento hepático que representa uma forma de transição entre a forma meningítica pura e a forma icterica e, finalmente, a forma meningo-renal, onde, ao lado das manifestações meningíticas, são encontrados os sintomas renais. Na leptospirose canícola, a feição clínica mais importante é a forma meningítica pura, desacompanhada de icterícia, conforme relatam os autores europeus. Predomina, na febre canícola européia e asiática, a localização meníngea, sendo as alterações líquóricas mais importantes a hipercitose com aumento de células entre 12 e 2.500 por cm^3 , principalmente, observada na 2.^a semana da moléstia e, em sua maioria, constituída por linfócitos e aumento das proteínas, o que foi observado em todos os casos. Quando a hipercitose é elevada, o líquido torna-se opalescente e a fórmula citológica se altera para uma percentagem maior de polinucleares. Nos Estados Unidos, entretanto, a forma icterica tem sido a mais relatada.

O exame citológico dos líquidos cefalorraquidianos por nós examinados mostra número normal de células em 11 pacientes e hipercitose nos outros 9 (55%).

A maior hipercitose encontrada em nossos casos foi de 469,6 células por mm^3 (S. J. S.), justamente aquéle que apresentou convulsões. Podemos observar que, num mesmo paciente, o número de células decresce à medida que a moléstia evolui e que a percentagem de polinucleares aumenta em relação direta com o número total de células. Considerando-se, porém, todos os casos por nós examinados, não foi possível estabelecer relação entre a data da punção e o número de células, pois, em alguns casos, encontramos evidente hipercitose nos primeiros dias de moléstia e em outros após duas semanas ou mais de evolução. CARGYLL e BEESON (1947), em 97 casos coligidos, notaram referência a hipercitose em 84(87%), cujo número variava de 6 a 3.000 células — 100 em média. A elevação maior era encontrada do 5.^o ao 9.^o dia de moléstia e havia evidente relação entre o aumento do número de células e a modificação da fórmula citológica a favor dos polinucleares. Os mesmos fatos foram observados por CLAPPER e MYERS (1943). Nas formas meningíticas puras, a hipercitose é constante e sua intensidade está em função da evolução da moléstia. Discreta nos primeiros dias, aumenta progressiva e rapidamente, até atingir o acme do 5.^o ao 15.^o dia, para decrescer, depois, rapidamente. No seu nível mais alto, encontram-se de 200 a 300 células por mm^3 ; há evidente concordância entre a hipercitose e o grau de reação meníngea. No início, há predominância de polinucleares, sendo índice de evolução favorável o encontro de certa percentagem de linfócitos. Mais tarde, há inversão da fórmula citológica para a linfomonocitose.

As taxas de proteínas totais que encontramos variam de 10 mg até 40 mg por 100 ml. Há evidente relação, se bem que não seja absolutamente constante, entre a hiperцитose e a hiperproteinorragia. A taxa de 30 a 40 mg é relatada como média por TRAISIER e BOUQUIEN (1933), que declaram ser a taxa proteica menos elevada do que o faria crer o número de células; todavia chegaram a encontrar uma taxa de 140 mg por 100 ml. CARGILL e BEESON (1947), nos 14 casos pessoais, encontraram como média 73 mg, tendo como limites 27 e 300 mg por 100 ml. Estes autores não relatam o local da punção e o método de dosagem — provavelmente usaram o do biureto, que dá taxas mais altas que o método de Niells. Nos casos desses autores em que há mais de uma punção, podemos constatar, como nos nossos, a relação hiperцитose-hiperproteinorragia e o decréscimo gradual da taxa proteica com a evolução da moléstia.

As taxas de cloretos evidenciados em nossos casos variam de 6,50 mg a 7,40 por 100 ml, com média de 7,00. A taxa de glicose varia de 32 mg a 153 mg por 100 ml, com uma média de 77. Não há relação entre as taxas de cloretos e glicose com a hiperцитose, a taxa de proteínas ou a gravidade do quadro clínico. Não podemos, pois, confirmar o fato relatado por alguns autores (TROISIER e BOUQUIEN, 1933) da discreta queda da taxa de cloretos e da elevação da taxa de glicose na leptospirose, elevação que se tornaria mais evidente nos casos mais graves.

Quanto à urorraquia, há relação direta entre as taxas líquóricas e sangüíneas.

As reações coloidais evidenciaram, em três casos, resultados do tipo meningítico; em seis casos, resultados de tipo parenquimatoso; em um, do tipo mixto e em dois, curva inespecífica nos tubos do meio. As reações coloidais de tipo parenquimatoso chamam a atenção para a possibilidade de lesões encefálticas na moléstia de Weil, o que deve ser, contudo, confirmado pela anátomo-patologia.

Nos líquidos cefalorraquidianos examinados, não foram encontrados pigmentos biliares; as reações específicas para lues e para cisticercose foram sempre negativas (em dois casos houve positividade da reação de Wassermann no soro sangüíneo), assim como o exame bacterioscópico. A inoculação em cobaia resultou sempre negativa e os títulos das aglutininas foram sempre muito baixos, mais baixos que os encontrados no soro sangüíneo. Os títulos diferentes de aglutininas mostram que elas são formadas fora do espaço subaracnóideo, malgrado a participação das meninges no processo infeccioso.

RESUMO E CONCLUSÕES

Os autores relatam os achados obtidos pelo exame do líquido cefalorraquidiano, em 20 casos de moléstia de Weil, observados no Pronto Socorro

e nas enfermarias de clínica médica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo, chamando a atenção para a frequência das repercussões da moléstia de Weil no sistema nervoso e o valor do exame do líquido para evidenciá-las. Nesses 20 doentes, foram praticados 27 exames liquóricos, sempre por punção suboccipital, em decúbito lateral, sendo as punções realizadas entre o 4.º e o 37.º dia de enfermidade. Os pacientes eram todos do sexo masculino, entre 15 e 45 anos, com os sinais clínicos seguintes: icterícia (20), febre e dores musculares (17), cefaléia (18), fenômenos hemorrágicos (14), vômitos (13), oligúria (11), anúria (4). Nenhum deles mostrava sinais clínicos de irritação meníngea, sendo que um deles apresentou convulsões de tipo comicial.

Em todos estes casos, as provas serológicas mostraram tratar-se de infecção por *Leptospira ictero-hemorrhagiae*, exceto um, no qual foi positivada a infecção por *Leptospira canicola*, através da soro-aglutinação. O exame liquórico realizado consistiu em medida da pressão, verificação das propriedades físicas, índice icterico, exame citológico qualitativo e quantitativo, dosagens das proteínas totais, dos cloretos, da glicose, da uréia e da bilirrubina, reações coloidais de benjoim e Takata-Ara, pesquisas de pigmentos biliares, reações de Wasserman, Steinfeld, Weinberg, Eagle e Meinicke, exame bacterioscópico, inoculação em cobaias e titulação das aglutininas.

Os autores não verificaram um único caso com hipertensão do líquido cefalorraquidiano. Em todos os casos havia xantocromia do líquido, cuja intensidade não estava em relação com o índice icterico sangüíneo, pois a um sangue com índice icterico igual a 104 correspondia um líquido com índice icterico igual a 0,5, enquanto a outro sangue com índice icterico igual a 42 correspondia um líquido com índice icterico igual a 2.

Fato de grande importância é a constância do achado do líquido xantocrômico que, nos casos de moléstia de Weil, é intensa e precoce. Nas icterícias devidas a outras causas, encontra-se xantocromia no líquido somente depois de muito tempo de moléstia e quando o grau de icterícia é muito intenso. A tonalidade de xantocromia devida à moléstia de Weil aproxima-se do amarelo-canário, tendendo para o esverdeado, enquanto que a xantocromia encontrada nos líquidos após hemorragias meníngeas tem tonalidade levemente avermelhada. Ao espectrógrafo, observa-se, nestes últimos casos, absorção luminosa na raia de hemoglobina e substâncias oriundas de sua desintegração direta, enquanto que, na moléstia de Weil, a absorção luminosa se processa na raia de bilirrubina. Merecem atenção os casos anictéricos da moléstia de Weil, casos que os autores estrangeiros relatam atingir a 40% da totalidade e que, todavia, não foram ainda descritos entre nós; nesses casos, não há xantocromia liquórica, mas estão presentes as demais alterações do líquido cefalorraquidiano.

O exame citológico dos líquidos mostrou número normal de células em 11 pacientes e hiperцитose nos outros 9. A hiperцитose decresce à medida que a moléstia evolui e a percentagem de células polinucleadas aumenta em relação direta com o número total de células. As dosagens de cloretos e glicose não mostraram alterações; não podemos, pois, confirmar o fato relatado por outros autores, da presença constante de hiperglicorraquia nessa enfermidade. A taxa líquórica da uréia está em relação direta com a taxa sangüínea. As reações coloidais evidenciaram, em 3 casos, resultados do tipo meningítico; em 6 casos, resultados de tipo parenquimatoso; em um, de tipo mixto; em dois, curva inespecífica nos tubos do meio. As reações coloidais de tipo parenquimatoso chamam a atenção para a possibilidade de lesões encefálicas na moléstia de Weil, o que deve ser, contudo, confirmado pela anátomo-patologia. Nos líquidos examinados, não foram encontrados pigmentos biliares; as reações específicas para lues e para cisticercose foram sempre negativas, assim como o exame bacterioscópico. A inoculação em cobaias resultou sempre negativa e os títulos das aglutininas foram sempre muito baixos, mais baixos que os encontrados no sôro sangüíneo.

Os autores concluem :

1) Há completa independência entre os sinais clínicos meníngeos, que sempre faltaram, e as alterações líquóricas presentes em 100% dos casos.

2) A freqüência das alterações líquóricas e a sua intensidade evidenciam a importância do exame do líquido cefalorraquidiano para o diagnóstico das alterações do sistema nervoso na moléstia de Weil.

3) O aparecimento de células polinucleadas, o seu número e percentagem estão em relação direta com o número total de células e não com a data da punção.

4) As alterações do líquido na moléstia de Weil sugerem a existência de lesões meníngeas e encefálicas que necessitam ser documentadas pela anátomo-patologia.

5) No diagnóstico da moléstia de Weil — forma icterica — tem grande importância o exame líquórico, que deve incluir, além das propriedades físicas (tonalidade e intensidade da xantocromia) e o índice icterico, a medida da pressão, o exame citológico qualitativo e quantitativo, as dosagens de cloretos, glicose, uréia, bilirrubina, as reações de Nonne, benjoim e Takata-Ara, a pesquisa dos pigmentos biliares e da leptospira, a inoculação em cobaia e a titulação das aglutininas.

SUMMARY

The authors relate the findings in the cerebrospinal fluid in 20 cases of Weil's disease observed in the wards of the "Hospital das Clínicas da Fa-

culdade de Medicina de São Paulo", calling attention to the frequency of the repercussions of Weil's disease in the nervous system and the value of the cerebrospinal fluid examination to demonstrate them. Twenty seven tests were made in the cerebrospinal fluid, always by sub-occipital puncture, the puncture being performed between the 4th. and the 37th. day of illness. All patients were male, aged 15 to 45 years with : jaundice (20), fever and muscular pains (17), headache (18), bleedings (14), vomits (13), oliguria (11), anuria (4). None of them showed clinical signs of meningitis, only one showed convulsions (of the comitial type).

In all cases evidence of leptospirôsis was obtained by means of serological agglutination, 19 positive with *L. ictero-hemorrhagix* and 1 with *L. canicola*. The tests performed in the cerebrospinal fluid were: pressure measurement ; physical properties ; icterus index ; qualitative and quantitative cell counts ; amount of proteins, chlorides, glyucose, urea and bilirubin ; benjoin and Takata-Ara colloidal reactions ; bile's pigments ; Wassermann, Steinfeld, Winberg, Eagle and Meinicke reactions ; bacterioscopic examination ; guinea-pig inoculation and agglutination test.

The authors did not find one single case of increased tention of cerebrospinal fluid. In all cases, the cerebrospinal fluid was xanthochromic whose intensity did not agree with the blood icterus index. To a spinal fluid with icterus index 0,5 the corresponding blood index was 104, while another fluid with icterus index 2, the corresponding blood index was 42.

The intensity and precocity of xanthochromic colour in the spinal fluid is a signal of utmost importance in the diagnosis of Weil's disease. Xanthochromia of the spinal fluid in jaundices of other etiologies is found only after a long time of illness and with very intense jaundice. The spinal fluid's in Weil's disease approached to yellow canarian with tendency to greenish, while the colour of hemorrhagic spinal fluids has slightly reddish tonality. At the spectrophotometer, in these cases, luminous absorption has been observed in the ray of the hemoglobin and substances proveninents of its direct desintegration, while, in Weil's disease, the luminous absorption takes place in the ray of the bilirubin. The foreign authors pointed that in all cases of Weil's disease about 40% are anicteric, without xanthochromia of the spinal fluid. These cases dont have been described among us.

The cell counting of the spinal fluid showed a normal number in 11 patients and increased number in the other 9, which decreases in proportion to the evolution of the disease, while the percentage of segmented neutrophils increases in direct proportion to the total number of cells. The dosage of chlorides and glyucose did not show any alteration ; we cannot, therefore, confirm the fact, related by other authors, of the constant increased amount of glyucose in this disease. The amount of urea is in direct

proportion with the blood amount. The colloidal reactions showed, in 3 cases, results of the meningitis type; in 6 cases, results of the parenchymatous type, in one of the mixed type; in two, inespecific curve in the middle tubes. The colloidal reactions of the parenchymatous type call the attention to the possibility of encephalics damages in Weil's disease, which has to be confirmed by histopathologic studies. No bile's pigments were found in the spinal fluids which had been tested; the characteristic reactions of lues and cysticercosis were always negative, as well as the bacterioscopic test. The guinea-pigs inoculation gave always a negative result and the titles of agglutinines were always very low, lower than those found in the blood.

The authors conclude :

1 — There is no agreement between the clinical meningeal symptoms always missing and the spinal fluid alterations present in 100% of cases.

2 — The frequency of the spinal fluids alterations and its intensity showed the utmost importance of its examination in the diagnosis of the nervous system's alterations in Weil's disease.

3 — There is a direct connection between the occurrence of segmented neutrophils — his number and percentage — with the total number of cells and no connection with the date of the punctation.

4 — The alterations of spinal fluid in Weil's disease hint the existence of meningeal and encephalic damages wich need to be proved by histopathologic studies.

5 — In diagnosis of icteric form of Weil's disease it is of utmost importance the spinal fluid examination including physical properties (tonality and intensity of the xanthochromia), icterus index, pressure mesuration, qualitative and quantitative citological counts, dosage of chlorides, glycose, urea, bilirrubin, ractions of Nonne, benjoin and Takata-Ara, research of bile's pigments and of leptospira, guinea-pig inoculation and agglutinine's titration.

BIBLIOGRAFIA

- BEESON, P. B., D. D. HANKEY e C. F. COOPER — 1951 — Leptospiral iridocyclitis : evidence of human infection with leptospira pomond in U. S. A. *J. A. M. A.* 145 (4) : 229-230.
- BEESON, P. B. e D. D. HANKEY — 1952 — Leptospiral meningitis. *A. M. A. Arch. Int. Med.* 89 : 575-583.
- BUZZARD, E. M. e J. A. H. WYLIE — 1947 — Meningitis leptospirosa. *Lancet* 252 : 417-420.
- GARGILL, W. H., Jr. e P. B. BEESON — 1947 — Value of spinal fluid examination as diagnostic procedure in Weil's disease. *Ann. Int. Med.* 27 : 396-400.
- CLAPPER, M. e G. B. MYERS — 1943 — Clinical manifestations of Weil's disease with particular reference to meningitis. *Arch. Int. Med.* 72 : 16-30.

- CORRÊA, M. O. A. e J. A. MEIRA — 1949 — Sobre um caso de febre canícola no homem. *Rev. Med. Cir. S. Paulo* 4 : 47-64.
- COSTA, S. e J. TROISIER — 1916 — Un cas de spirochétose icterohémorragique. *Bull. Mem. Soc. Méd. Hôp. Paris* 40 : 1635-1639.
- COSTA, S. e J. TROISIER — 1917 — Réactions cytologiques et chimiques du liquide céphalo-rachidien dans la spirochétose icterohémorragique. *Compt. Rend. Soc. Biol.* 80 : 29-31.
- COSTA, S. e J. TROISIER — 1918 — Virulence comparée du liquide céphalo-rachidien et du sang dans la spirochétose icterohémorragique. *Comp. Rend. Soc. Biol.* 81 : 1267-1268.
- COSTA, S. e J. TROISIER — 1918a — Les réactions cytologiques du liquide céphalo-rachidien dans leurs rapports avec sa virulence au cours de la spirochétose icterohémorragique. *Compt. Rend. Soc. Biol.* 81 : 1269-1270.
- COWDEN, F. E., F. D. OWNBY e R. L. ISHAM — 1952 — Weil's disease ; report of four cases emphasizing two adjuncts to early diagnosis. *Amer. Practitioner* 3(5) : 353-364.
- DRAGERT, E. — 1934 — Beitrag zur Pathologischen Anatomie der Weilschen Erkrankung. *Virchows Arch. Path. Anat.* 292 : 452-464.
- GUILLAIN, G. e C. RICHET — 1910 — Etude sur une maladie infectueuse caractérisée par de l'ictère et un syndrome méningé. *Bull. Mem. Soc. Méd. Hôp. Paris* 30 : 289-299.
- HAUNZ, E. A. e J. D. CARY — 1952 — Canicola fever : report of nine cases of one family, with abstract of the world literature. *A. M. A. Arch. Int. Med.* 89 (6) : 978-993.
- XANEKO, R. e K. OKUDA — 1917 — The distribution in the human body of spirochaeta icterohaemorrhagiae. *J. Exp. Med.* 26 : 325-339.
- LAUBRY, C. e M. PARVU — 1910 — Syndrome méningé avec lymphocytose rachidienne d'origine indéterminée. *Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris* 30 : 236-244.
- MOLLARET, P. e B. ERBER — 1935 — Contribution à l'étude physiopathologique de la spirochétose méningée pure. *Bull. Mem. Soc. Méd. Hôp. Paris* 51 : 1638-1643.
- MURGATROYD, F. — 1937 — Chronic meningitis in Weil's disease. *Brit. Med. J.* 1 : 7-11.
- THIEL, P. H. van — The leptospiroses. Universitaire pers Leiden, Leiden, 1948.
- TROISIER, J. e Y. BOQUIEN — La spirochétose méningée. Masson, Paris, 1933.
- WALCH-SORGDRAGER, B. — 1939 — Leptospiroses. *Bull. Health Organ. League Nations* 8 : 143-386.



DISCURSO PRONUNCIADO PELO DR. SEBASTIÃO DE CAMARGO
CALAZANS, DIRETOR DOS LABORATÓRIOS REGIONAIS DO
INSTITUTO ADOLFO LUTZ DURANTE A CERIMÔNIA
INAUGURAL DA NOVA SEDE DA UNIDADE DE TAUBATÉ

O último decênio do século passado marcou, sem dúvida alguma, uma grande época na organização sanitária do nosso Estado.

Em 1890, é criado o Laboratório Farmacêutico ; em 1892, o Instituto Vacinogênico, a Secção de Estatística Demógrafo-Sanitária, o Instituto Bacteriológico, o Laboratório de Análises e o Desinfetório Central. Em 1894, no govêrno de Bernardino de Campos, sendo secretário do Interior Cesário Mota, foi construído, pelo engenheiro Theodoro Sampaio, o Hospital do Isolamento, no mesmo local em que ainda hoje se encontra, numa área de terreno medindo 50 hectares.

Em 1896, inaugura-se a sede definitiva do Instituto Bacteriológico, que vinha funcionando desde a sua fundação, em prédio alugado, no centro da cidade.

Finalmente, em julho de 1899, Lutz, então diretor do Instituto Bacteriológico, sugere ao govêrno a criação de um Instituto Soroterápico, onde Vital Brasil, ajudante do Instituto Bacteriológico, pudesse prosseguir seus estudos sôbre a soroterapia. Pouco tempo mais tarde, com o aparecimento da peste bubônica em nosso Estado, mais imperativa se tornou a necessidade da criação de um Instituto Soroterápico e foi, nessa oportunidade, que Emilio Ribas, já diretor-geral do Serviço Sanitário, solicitou do govêrno, presidido por Fernando Prestes, a criação de um Instituto de tal natureza, dependência do Instituto Bacteriológico, e que seria o futuro Instituto Butantan.

Pela lei n.º 878-A, de 23 de janeiro de 1901, promulgada pelo conselheiro Rodrigues Alves, então presidente do Estado, foi criado o Instituto Butantan.

O exame cronológico dêsses acontecimentos e as medidas governamentais então tomadas demonstram a clarividência dos estadistas daquela época e a compreensão perfeita da necessidade da continuidade administrativa e, uns após outros, foram os governos criando órgãos que se completavam no conjunto harmônico da nossa máquina sanitária, superiormente

organizada de conformidade com os mais adiantados conhecimentos da época.

Para que os velhos não os esqueçam e os novos aprendam a cultuar suas memórias, nunca é demais que se relembre seus nomes, em ocasiões como esta. Lembremos, pois, entre outros, os nomes de Cerqueira Cesar, Vicente de Carvalho, Bernardino de Campos, Cesário Mota, Fernando Prestes, Pereira de Queiroz e Rodrigues Alves, pois todos concorreram, decididamente, para a organização do nosso Serviço Sanitário.

E foi ainda graças à visão desses mesmos estadistas que pôde ser construído esse conjunto monumental de edifícios, em parte da área dos 50 hectares, pertencentes ao Hospital do Isolamento, e a Cidade Universitária, em terrenos cedidos pelo Instituto Butantan, dos seus 300 hectares.

Data, pois, de pouco mais de meio século o início dessa gloriosa trajetória do Serviço Sanitário do Estado de São Paulo. Sua vida é um suceder de vitórias e triunfos, mas também de heroísmos e sofrimentos.

Teve seus heróis como Lutz, Emílio Ribas, Domingos Pereira Vaz, André Ramos, Januário Fiori e Oscar Marques, que se deixaram picar por mosquitos infectados com o vírus amarílico, e mártires que perderam a vida no exercício de suas funções, como Gonçalves Roxo, Teodoro Baima, Alexandrino Pedroso, Lemos Monteiro e Edson Dias.

LABORATÓRIO DE SAÚDE PÚBLICA—INSTITUTO ADOLFO LUTZ

Com a evolução dos conhecimentos e das conquistas da Higiene e da Medicina preventiva, novos rumos foram sendo dados às organizações sanitárias, que assim se viram levadas a modificar sua estruturação, reagrupando órgãos independentes e criando novos serviços.

Surgiram, assim, os Laboratórios de Saúde Pública, complexos organismos, onde, além dos exames destinados ao diagnóstico das moléstias parasitárias e infecto-contagiosas, do preparo de soros e vacinas e de outros produtos biológicos de uso profilático ou diagnóstico, fôsem feitos exames bromatológicos e químicos, além de outros, destinados à fiscalização de produtos biológicos e farmacêuticos.

Na nossa Organização Sanitária, porém, a prática demonstrou que não era a centralização, em um só Instituto, de serviços tão complexos, a solução para o problema, mas sim a continuação da existência, como órgãos autônomos e independentes, de dois grandes grupos de laboratórios especializados.

O primeiro grupo, resultante da fusão do antigo Instituto Bacteriológico com o Laboratório de Análises e destinado à execução de exames biológicos, bromatológicos e químicos; o segundo, constituído pelos Ins-

titutos Vacinogênico e Butantan, ocupando-se do preparo de soros, vacinas e produtos diversos, dedicando-se ambos, como é óbvio, às pesquisas científicas para a elucidação dos problemas que lhes são afetos.

Como resultante dessa ordem de idéias, foi, pelo Decreto-lei n.º 11.522, de 26 de dezembro de 1940, criado o Instituto Adolfo Lutz e extinto, no Departamento de Saúde, o Serviço de Laboratório da Saúde Pública ; organizado poucos anos antes.

LABORATÓRIOS REGIONAIS

Apesar de já fazerem parte do esquema de organização do Laboratório recém-criado, somente mais tarde, pelo Decreto-lei n.º 13.789, de 31 de dezembro de 1943, pôde Carvalho Lima concretizar o seu projeto de organização dos Laboratórios Regionais, que passaram a substituir os antigos Postos Bromatológicos do Interior.

As sucessivas diretorias do Instituto foram instalando êsses laboratórios, na seguinte ordem, sem lhes dar, contudo, estruturação apropriada a seu funcionamento : o de Santos, em 1944 ; o de Ribeirão Preto, em 1947 ; o de Campinas, em 1948 e o de Taubaté, em 1951.

Apesar do interesse e esforço dos diretores que se sucederam na administração do Instituto, muito precária vinha sendo a vida dos Laboratórios Regionais. Além da falta de elementos técnicos capacitados e em número suficiente para a realização dos exames e análises, altamente especializados, exigidos pelo Instituto Adolfo Lutz, suas verbas, nem sempre, eram aproveitadas integralmente.

Em seu Relatório de 1948, Salles Gomes, então diretor do Instituto, assim se refere aos Laboratórios Regionais :

“Os Laboratórios Regionais em funcionamento vieram demonstrar as vantagens dessa organização, pois o número de exames nêles realizados já atingiu uma cifra considerável, ainda em ascensão, com remessa de materiais de zonas subsidiárias, que, devido às dificuldades de transporte, jamais vieram, ou só excepcionalmente chegaram a êste Laboratório Central.

Basta examinar o mapa da Divisão Sanitária do Estado, para, desde logo, se aperceber dos benefícios de existir um laboratório próximo à zona por êle servida.

Evidentemente que uma tão ampla rede de laboratórios merece uma atenção especial e falhas existem que devem ser sanadas, mas são falhas mais da esfera ‘executandi’ do que pròpriamente de sua estruturação técnica”.

Para corrigir as falhas verificadas no decorrer da aplicação do plano, foi providenciado o reaparelhamento de todos os laboratórios, sendo alguns transferidos de antigos prédios, onde se achavam mal instalados.

Não obstante as enormes dificuldades que tiveram de enfrentar, conseguiram essas unidades do Instituto preencher suas finalidades, tendo, até o presente, realizado a elevada cifra de 351.494 exames, assim distribuídos : L. R. de Santos, em 9 anos : 170.503 exames ; L. R. de Ribeirão Preto, em 6 anos : 73.618 exames ; L. R. de Campinas, em 5 anos : 88.491 exames e L. R. de Taubaté, em 22 meses : 18.882 exames.

O estudo comparativo do movimento dos Laboratórios Regionais durante êstes últimos três anos, com o dos anos anteriores, desde a sua criação, demonstra os progressos realizados, em consequência das medidas tomadas, durante o atual govêrno, como passamos a demonstrar : exames realizados de 1944 a 1949 : 71.314 ; exames realizados de 1950 a 1952 : 280.189.

Se, no que se refere aos exames biológicos, foi extraordinária a atividade dos Laboratórios Regionais, no sector dos exames bromatológicos e químicos, sua contribuição foi insignificante, verdadeiramente ridícula.

Vários motivos vêm contribuindo para isso. Em primeiro lugar, de todos os Regionais, apenas o de Santos se achava aparelhado convenientemente. Os de Ribeirão Preto e Campinas só no corrente exercício tiveram equipadas suas secções de Bromatologia e Química e nomeados os químicos responsáveis. Dispondo, cada um dêles, porém, de só um profissional químico, quando seu número terá que ser, no mínimo, de dois, e, não contando sequer com um técnico químico, elemento indispensável para a realização dos exames dessa natureza, nada ou quase nada puderam fazer, sendo urgente a necessidade da admissão de funcionários dessa categoria.

No particular dos exames bromatológicos, o fato mais lamentável, contudo, é o que ocorre com o Laboratório Regional de Santos, em consequência da falta de remessa de amostras para exame.

Como dissemos, linhas acima, está êste Regional devidamente aparelhado e dotado de instalações de primeira ordem, dispondo de pessoal técnico capaz de uma grande produção. Vem, no entanto, apresentando, paradoxalmente, uma curva decrescente no número dos exames realizados. Assim é que, tendo executado 1.202 exames, em 1947, foi sua produção diminuindo, gradativamente, até atingir 200 análises, em 1950, e 217, em 1951, ou sejam 18 exames por mês, em chocante contraste com a média mensal de exames realizados na Secção de Microbiologia e Diagnóstico, que se elevou a 1.854!

Ora, sabendo-se que, em climas como os de Santos, os gêneros alimentícios estão sujeitos a rápida deterioração e que a proporção dos produtos condenados no Laboratório Central atinge a 50%, segundo cálculo feito

por Bruno Rangel Pestana, ex-diretor da Diretoria de Bromatologia e Química, poderemos ter uma idéia do que deverá ocorrer naquela cidade praiana, no que diz respeito à qualidade dos gêneros alimentícios consumidos pela população. Parece-nos, pois, de grande necessidade que se utilize melhor, em benefício da coletividade, os recursos laboratoriais proporcionados pelo Regional de Santos.

Infelizmente, fatos estranhos à nossa vontade, conhecidos na administração pela designação de "fatores marginais", vêm impedindo êsse aproveitamento, com graves prejuízos para a Saúde Pública.

PESQUISAS CIENTÍFICAS

Além dos trabalhos de rotina, terão êstes laboratórios que se dedicar, também, às pesquisas científicas, que, como é sabido, forçam e estimulam o estudo e o progresso. Um instituto que não desenvolve seus esforços neste terreno entrará fatalmente, em decadência, fossilizando-se.

É por isso que a direção dos Laboratórios Regionais vem estimulando e fornecendo os meios para que elas se desenvolvam e, passada esta primeira fase de organização e regularização dos serviços de rotina dos referidos Regionais, espera obter substancial contribuição científica dos seus técnicos.

Localizados em zonas, as mais diversas do nosso Estado, muitas delas com condições e problemas sanitários peculiares, as pesquisas e estudos nêles realizados se encaminharão, sem dúvida, no sentido da solução dêsses mesmos problemas. As próprias atividades dos trabalhos de rotina se incumbirão de apontar os temas mais interessantes para tais investigações.

Haja vista, por exemplo, o caso de Santos. Seu diretor, investigando a incidência das verminoses nos escolares daquela cidade, notou, nas fezes de algumas crianças, a presença de ovos de *Schistosoma mansoni*. Prosseguindo em seus estudos, averiguou a existência de 56 casos positivos da moléstia de Manson-Pirajá da Silva, dos quais 42 eram de pessoas que nunca residiram fora da cidade, confirmando, assim, os primeiros achados de Arantes, em 1923.

Naquele laboratório, continuam os estudos dessa terrível verminose, devendo ser publicado, no próximo número da Revista do Instituto, um trabalho que versará sobre "A contribuição do Laboratório Regional na epidemiologia da esquistossomose *mansoni* em Santos".

Nos Regionais de Campinas e Taubaté, sediados em zonas que se vêm dedicando à pecuária leiteira intensiva, pesquisas referentes à brucelose, ao leite, aos laticínios serão iniciadas e, em Ribeirão Preto, estudos sobre a moléstia de Chagas constituirão, sem dúvida, contribuição de grande valor para o encaminhamento dêsses problemas sanitários.

ESTRUTURAÇÃO

Ao aumento extraordinário das atividades dos Laboratórios Regionais não correspondeu, entretanto, um acréscimo proporcional do número de seu pessoal técnico.

Nessas condições, temos a impressão de que já nos aproximamos bastante daquele ponto crítico e perigoso, em que se venha a sacrificar a qualidade para atender à quantidade.

Seria profundamente lamentável, se tal desastre ocorresse em um Instituto da tradição, do prestígio e da responsabilidade do Instituto Adolfo Lutz, que se orgulha, e com justa razão, da segurança dos seus exames e da exatidão das suas análises.

Portanto, um criterioso programa de expansão dos trabalhos dos Laboratórios Regionais só poderá ser realizado depois de admitido o pessoal necessário e aprovada a estruturação projetada, encaminhada ao Sr. Diretor do Departamento de Saúde.

Diante de tais fatos, dirigimos, com a devida vênia, um apêlo ao Senhor Governador, no sentido de ser convertida em lei a projetada organização e admitidos os funcionários técnicos e administrativos indicados, que são os estritamente necessários para o funcionamento normal de tão importante sector da Saúde Pública.

Em um rápido retrospecto do que foi realizado neste importante sector, na notável obra administrativa do atual govêrno, verificamos o seguinte : 1.º — concluiu-se a construção do moderno biotério do Laboratório Regional de Santos e sua ala suplementar, destinada a animais de porte médio ; 2.º — o Laboratório Regional de Campinas foi reaparelhado e se acha instalado em amplo e confortável prédio e, na área livre do terreno, foram feitas construções rústicas, destinadas ao biotério ; 3.º — instalou-se em prédio próprio e está sendo dotado de pessoal técnico e administrativo e da aparelhagem e mobiliário necessários o Laboratório Regional de Taubaté.

O PLANO QUADRIENAL E OS LABORATÓRIOS REGIONAIS

A política seguida pela administração, no tocante à criação dos Laboratórios Regionais de Saúde Pública, vem obedecendo a dois pontos capitais : 1.º — Possibilidade de obtenção das verbas necessárias para cobrir as despesas de aluguel ou construção de edificios próprios, aquisição de material e recursos para a admissão de funcionários ; 2.º — Existência de pessoal técnico suficientemente treinado, para assumir as graves e importantes responsabilidades de um Laboratório Regional de Saúde Pública, nos moldes estabelecidos pelo Instituto Adolfo Lutz.

Para o fim em vista, foram planejadas instalações padronizadas para os laboratórios do interior, em prédios especialmente construídos.

Estão em funcionamento quatro Laboratórios Regionais, sendo dois em prédios próprios e dois em prédios adaptados. Dispõe o governo de ampla área de terreno em Campinas e outra de 4.727 m², doada pela Câmara Municipal de Ribeirão Preto.

De V. Excia., Sr. Governador, que, em mais de uma oportunidade, tem demonstrado o seu grande interesse pela vida e desenvolvimento do Instituto Adolfo Lutz e dos seus Laboratórios Regionais, espera, agora, sua direção, sejam autorizadas as obras dos prédios definitivos para os Laboratórios sediados naquelas duas importantes cidades e para os quais há verba consignada no Plano Quadrienal.

Ao assumir as rédeas do Governo do Estado, V. Excia. houve por bem determinar que, além dos quatro laboratórios criados anteriormente, fossem organizados mais quatro, que seriam localizados em Baurú, São José do Rio Preto, Presidente Prudente e Sorocaba. Neste particular, porém, pouco foi feito até o presente momento.

Estão em fase de acabamento as obras de adaptação do prédio destinado ao Laboratório Regional de Baurú, com recursos fornecidos pela Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, e iniciadas as do Biotério, com verba Municipal, devendo entrar em funcionamento no começo do próximo ano.

Completada, assim, a instalação, em pontos estratégicos do Estado, dessas oito unidades laboratoriais, irão elas distribuir seus benefícios por todo o interior, melhorando as condições de vida de suas populações, justamente as mais necessitadas, as mais carecedoras da atenção e assistência dos poderes públicos, mormente no grave momento que atravessamos e no qual todos, particulares e Governo, têm obrigação inadiável de se opor, pelo emprego de medidas concretas, ao êxodo de nossas populações do campo para as cidades, ou destas para a Capital.

A instalação imediata dos restantes Regionais, de conformidade com o Plano Quadrienal, será, evidentemente, uma medida capaz de concorrer, também, para a solução de tão angustiante problema.

Na organização desses laboratórios, é imperioso confessar, as maiores dificuldades encontradas têm sido as referentes ao problema do preenchimento dos cargos técnicos.

Para cargos dessa natureza, aparecem, freqüentemente, muitos candidatos, mas, nem sempre, com os conhecimentos exigidos. Infelizmente, a disputa dos lugares se opera, em geral, através do sector político, sendo afastados aquêles que, mais capazes, poderiam concorrer, mais eficazmente, para assegurar o renome do Instituto. Assim, bons técnicos já com estágio probatório concluído nem sempre têm sido admitidos, ingressando, em seus lugares, cidadãos sem conhecimento algum dos serviços que terão de executar. A seleção, por meio de concurso, já determinada por V. Excia., para algumas carreiras, virá, sem dúvida, resolver êste magno problema.

LABORATÓRIO REGIONAL DE TAUBATÉ

O Laboratório Regional de Taubaté, que hoje se instala oficialmente, tem já sua pequena história.

Doado o terreno pela Prefeitura Municipal, para nêle ser construído o prédio do laboratório, foi, logo depois, votada a verba de Cr\$ 1.500.000,00 e autorizado o início das obras pelo Governo do Dr. Fernando Costa.

Ocupava a Prefeitura local o Dr. Antônio José de Oliveira Costa, que compreendeu, imediatamente, os benefícios que adviriam, para sua cidade e para tôda a zona do Vale do Paraíba, da criação de um Laboratório Oficial. Iniciadas as obras em 1945, ficaram, posteriormente, paralizadas por longo tempo. Recomeçadas em 17 de março de 1951, foram, afinal, terminadas em agosto p. passado, sete anos após o seu início !

Constando o projeto de duas alas, uma, correspondente ao prédio principal e outra, menor, destinada ao biotério e cujas obras se achavam concluídas, resolveu o Sr. Diretor do Departamento de Saúde, para atender a urgentes necessidades da Saúde Pública, fôsem instalados, a título precário, alguns dos nossos serviços, na parte já concluída das construções planejadas.

Nos referidos laboratórios passaram, então; a ser executados, além das reações sorológicas para diagnósticos da sífilis, febre tifóide e brucelose, exames bacteriológicos para diagnóstico das meningites, disenteria bacilar, tuberculose, lepra e exames parasitológicos. Nessas condições, foi possível dar início às atividades dêste Regional em fevereiro de 1951.

Em seu primeiro mês, realizou, apenas, oito exames, número que se elevou a setecentos e vinte e dois, no mês de dezembro, perfazendo um total de 3.296 exames, em 11 meses. Já no ano seguinte, melhor aparelhado e dispondo de maior número de técnicos, mas ainda em suas instalações provisórias, teve a sua produção cinco vêzes aumentada.

Terminadas em agosto as obras do prédio principal, foram os laboratórios transferidos para sua sede definitiva.

V. Excia. vai encontrar, porém, êste prédio desguarnecido ; faltam-lhe, para sua regular instalação, o mobiliário, vários instrumentos e aparelhos, tudo já encomendado, mas ainda não entregue pela Comissão Central de Compras.

Foi organizador dêste Laboratório o dr. Fausto d'Oliveira Quaglia, que, pela sua competência e dedicação ao trabalho, exerceu, com grande brilho, suas elevadas funções, concorrendo, assim, para que esta casa, desde seus primeiros passos, se impusesse ao respeito e à consideração do público.

Em janeiro dêste ano, passou a dirigi-lo o dr. Celso Soares Haberbeck Brandão, jovem entusiasta e competente, colega que conosco trabalhara vários anos antes, no Instituto Butantan.

A direção do Instituto Adolfo Lutz muito espera de sua energia e operosidade, aliada a sólidos conhecimentos e à exemplar probidade científica.

No início do próximo ano, uma vez terminada a instalação de tôdas as suas secções e já dispondo de corpo técnico de alto padrão e rigorosamente selecionado, estará êste Regional em condições de atender a tôda esta vasta região, que vai da cidade de Jacaref às fronteiras dos Estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais, na zona do Vale do Paraíba, abrangendo, ainda, as cidades do litoral Norte, com uma população total de 520.000 habitantes.

Sr. Governador. Realiza-se hoje, pois, presidida por V. Excia., singela festividade para se declarar inaugurada, oficialmente, a sede definitiva dêstes Laboratórios. Qual péquenina borbulha enxertada em vigoroso tronco, êste novo Regional há de crescer, florescer e frutificar em pouco tempo.

Que êste novo ramo do Instituto Adolfo Lutz, humificado pelo carinho da hospitaleira gente desta encantadora cidade e acariciado pelo espírito público dos habitantes dêste lendário Vale, tão paulista, tão nosso, preencha integralmente as finalidades para que foi criado, honrando a memória do seu patrono e daqueles vultos excepcionais e inesquecíveis, nascidos nestes rincões e que tão bem souberam dignificar a terra paulista, no exercício dos elevados postos que ocuparam, promovendo o bem-estar do povo, melhorando as condições sanitárias da nossa terra, preparando o progresso da Pátria estremeçada : Conselheiro Rodrigues Alves, Família Ribas e Oswaldo Cruz.

Sr. Prefeito. A cidade que Jacques Felix fundara em Itaboaté, velho aldeamento dos Guaianazes, hoje se engalana para festejar a inauguração dêste Instituto e receber o Sr. Governador do Estado e sua ilustre comitiva.

Mas não está em festa sômente esta cidade. É tôda uma região que se regosija. É tôda esta porção da terra paulista, banhada pelas águas dêste maravilhoso Paraíba, que, como escrevera, recentemente, notável jornalista patricio, pode ser assim descrito : "O mais singular dos rios da potamografia brasileira, desde os seus caracteres geográficos, até ao determinismo humano que criou às suas margens. Rio paradoxal de contrastes e oposições, a cavar o leito através de formações geológicas antagônicas que criam problemas e enigmas que desafiam a argúcia dos geólogos. Rio da vida, cujo vale atrai, fixa e enraíza populações teimosas que se agarram àquelas margens, mesmo nas épocas de decadência econômica, de declínio e modorra."

Região, sem dúvida, privilegiada, retoma ela, no presente, o caminho da prosperidade. Empreendimentos notáveis vêm nela sendo instalados; modernas vias de comunicação cortam seu território e extraordinário potencial elétrico estende seus fios de cobre, que conduzem o progresso e produzem o bem estar.

Zona de estâncias de cura famosas pelo seu clima ameno e reconfortante, de praias maravilhosas, do enigma do anofelismo sem malária; chamada por uns o "Ruhr" brasileiro, por outros cognominada nosso Vale do Tennessee, sua transformação futura será, fatalmente, uma realidade.

Praza aos céus que a estadistas da estatura moral, da energia e da cultura de V. Excia., Sr. Governador do Estado, esteja reservada, pela Providência, a iniciativa das medidas concretas para a transformação dêste predestinado Vale.

AÇÃO *IN VITRO* DA AUREOMICINA ORAL E DO FOSFATO BICÁLCICO SÔBRE O CRESCIMENTO DE *CANDIDA ALBICANS*.

por

JOSÉ LOPES NETTO
Médico do Instituto Adolfo Lutz

ROBERTO DE ALMEIDA MOURA
Médico do Instituto Adolfo Lutz

LÚCIO P. DE CARVALHO LIMA
Livre-docente da Faculdade de Farmácia e Odontologia da Universidade de São Paulo

Desde o aparecimento da aureomicina como agente terapêutico, têm sido registradas manifestações durante a sua administração, principalmente para o lado do tracto gastrintestinal. As manifestações orais (língua negra-pilosa, estomatite angular, glossite, etc.) aparecem em 6 a 20% dos pacientes tratados pela aureomicina e o cloranfenicol (TOMASZEWSKI e colab., 1951). São também freqüentes diarréia, prurido e fissura anais, bem como irritação vaginal, etc. Ao lado destas, são referidas complicações mais graves, como sejam processos pulmonares (WOODS e colab., 1951), endocardites (GEIGER e colab., 1946 e ZIMMERMAN, 1950), ocasionando, em alguns casos, a morte do paciente.

A freqüência com que se conseguiu isolar, desses casos, *Candida albicans*, levou a crer que essa levedura era favorecida, em seu crescimento, pelo antibiótico (MOORE, 1951 e PAPPENFORT e SCHNALL, 1951). Esses autores referem ter obtido, *in vitro*, estimulação do crescimento de *Candida albicans*, em presença de aureomicina.

É opinião de outros autores que as manifestações clínicas devam ser atribuídas a uma deficiência de complexo B (LEITNER, 1950 e HARRIS, 1950). Este último admite que a aureomicina, reduzindo a flora bacteriana normal do intestino, possibilitaria um grande desenvolvimento das leveduras normalmente existentes, as quais ganhariam virulência e invadiriam os tecidos cuja resistência estaria diminuída pela deficiência de vitamina B.

Por outro lado, LIPNIK e colab. (1952) referem ter demonstrado, *in vitro*, ser o fosfato bicálcico, contido no excipiente da cápsula do antibiótico, o responsável pela estimulação. Empregando discos embebidos em solução de fosfato bicálcico e em aureomicina oral, encontraram zonas de aumento do crescimento da levedura, em placa.

O problema, sendo grave, devido ao largo emprêgo da droga, mereceu a atenção do COUNCIL ON PHARMACY AND CHEMISTRY (1951), que exigiu

do laboratório fabricante a inclusão de uma advertência a respeito, no rótulo do medicamento.

Procuramos, no presente trabalho, verificar a possível ação estimuladora da aureomicina oral e do fosfato bicálcico sobre o crescimento da levedura, empregando leitura turbidimétrica e procedendo à análise estatística dos resultados.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizada u'a amostra de *Candida albicans* recentemente isolada de material de traquéia, colhido por endoscopia, patogênica para o coelho, determinando morte em quatro dias e característicos microabscessos renais e pulmonares.

O meio empregado foi caldo maltosado (Maltose broth, Difco), com pH 4,0, uma vez que a aureomicina inativa-se facilmente em pH elevado (LEVADITI e colab., 1950). Sendo a atividade do antibiótico sensivelmente diminuída a 37°C (PRATT e DUFRENOY, 1949), as incubações foram procedidas a 24°C.

As leituras turbidimétricas foram realizadas em espectrofotômetro "Coleman Junior", empregando-se cubas Pyrex de 18 x 150 mm, previamente testadas contra cubas padrão. Foi determinada, inicialmente, a curva de absorção espectrofotométrica do meio, com a finalidade de determinar a faixa de comprimento de onda correspondente à transmissão máxima, o que se verificou entre 670 e 690 m μ . Todas as leituras foram feitas em 680 m μ , contra blanche do meio.

Foi utilizada aureomicina "Lederle" para uso oral, dissolvida em água destilada estéril, as soluções sendo preparadas no momento do início da experiência, de modo a obterem-se, nos tubos de cultura, concentrações de 2 e 4 gamas por ml, correspondentes às concentrações médias sanguíneas obtidas pelas doses terapêuticas habituais (BARON, 1950 e KAREL e ROACH, 1951). A atividade do antibiótico contido nos tubos de experiência foi verificada por meio de discos de papel de filtro embebidos nos meios não semeados, frente a uma raça sensível de *Bacillus subtilis*.

Como inóculo usou-se uma cultura de 15 horas da *Candida albicans* em caldo maltosado, cuja transmissão, no momento da semeadura, era de 54% (Coleman Junior, $\lambda = 680$ m μ , tubos 18 x 150).

EXPERIÊNCIA N.º 1

Comparamos o crescimento, em 12 horas, de *Candida albicans* em meio simples e em meio adicionado de aureomicina oral.

Procuramos verificar, previamente, qual o tempo de atividade da aureomicina em solução no meio de cultura, testando-a de hora em hora; o período em que houve manutenção da atividade foi 15 horas, tempo suficiente para manifestar-se a eventual ação sobre a reprodução da levedura.

Os dados da experiência vêm expostos no quadro 1.

QUADRO 1

Tubos	Meio	Sol. aureomicina		Água destil.	Inóculo
		20γ/ml	40γ/ml		
1 a 10	8,5 ml	—	—	1,0 ml	0,5 ml
11 a 20	8,5 ml	1,0 ml	—	—	0,5 ml
21 a 30	8,5 ml	—	1,0 ml	—	0,5 ml
Blanque	8,5 ml	—	—	1,5 ml	—

Para o estudo dos resultados, procedemos à análise da variância das médias dos três grupos pelo teste F, estabelecendo a hipótese de que todos os valores pertencem a u'a mesma população de crescimentos, com distribuição normal. Os cálculos estão expressos no quadro 2.

QUADRO 2

GRUPOS	I (meio simples)	II (aureomic. 2γ/ml)	III (aureomic. 4γ/ml)	
LEITURAS (Turvação% = 100% — Transmissão%)	20,0 21,5 22,0 22,0 23,5 22,5 27,0 22,0 27,0 21,0	24,0 25,0 24,5 25,5 26,0 21,0 27,5 26,5 25,5 26,0	24,0 24,0 26,5 23,0 22,0 22,0 26,0 25,0 22,5 27,0	
Sk = 30 SX ² = 17512,5 SX = 722,0 C = (SX) ² /Sk = 17376,13	Sk ₁ = 10 SX ₁ = 228,5	Sk ₂ = 10 SX ₂ = 251,5	Sk ₃ = 10 SX ₃ = 242,0	
Soma total dos quadrados = S(X — \bar{x}) ² = SX ² — C = 136,3667 (1) Soma dos quadrados entre os grupos = SX ² ₁ /k ₁ + SX ² ₂ /k ₂ + SX ² ₃ /k ₃ — C = 26,7167 (2) Soma dos quadrados dentro dos grupos = (1) — (2) = 109,65				
Fonte de Variação	Varição	Graus de liberdade	Variância	F
TOTAL ENTRE DENTRO	136,3667 26,7167 109,65	Sk — 1 = 30 — 1 = 29 n — 1 = 3 — 1 = 2 Sk — n = 30 — 3 = 27	26,7167/2 = 13,3583 109,65/27 = 4,0611	$\frac{13,3583}{4,0611} = 3,29$

QUADRO 4

GRUPOS	I (meio simples)			II (fosfato)		
	X_1	$X_1 - \bar{m}_1$	$(X_1 - \bar{m}_1)^2$	X_2	$X_2 - \bar{m}_2$	$(X_2 - \bar{m}_2)^2$
VALORES	33,0	0	0	27,0	8,0	64,0
	31,5	1,5	2,25	33,0	2,0	4,0
	29,5	3,5	12,25	38,0	3,0	9,0
	32,5	0,5	0,25	35,0	0	0
	32,0	1,0	1,0	37,0	2,0	4,0
	33,5	0,5	0,25			
	33,5	0,5	0,25			
	30,5	2,5	6,25			
	31,0	2,0	4,0			
	32,0	1,0	1,0			
\bar{x}	$\bar{x}_1 = 31,9$			$\bar{x}_2 = 34,0$		
k	$k_1 = 10$			$k_2 = 5$		
\bar{m}	$\bar{m}_1 = 33,0$			$\bar{m}_2 = 31,0$		
$S(X - m)^2$	27,5			81,0		
$C = k(\bar{x} - \bar{m})^2$	12,4			5,0		
$S(X - x)^2 = S(X - \bar{m})^2 - C$	15,4			76,0		
$S^2 = \frac{S(X_1 - \bar{x}_1)^2 + S(X_2 - \bar{x}_2)^2}{(k_1 - 1) + (k_2 - 1)}$	91,4			7,03		
$s = \frac{\bar{x}_2 - \bar{x}_1}{s} \sqrt{\frac{k_1 k_2}{k_1 + k_2}}$	$\sqrt{7,03} = 2,65$			1,44		

O valor de F para, respectivamente, 2 e 27 graus de liberdade é 3,35, ao nível de significância de 5%. O valor achado — 3,29 — não é significativo, a hipótese não sendo rejeitada.

Não há, pois, evidência de que a aureomicina tenha influído sobre o crescimento de *Candida albicans*.

EXPERIÊNCIA N.º 2

Comparamos o crescimento, em 24 horas, de *Candida albicans* em meio simples e em meio adicionado de fosfato bicálcico na concentração de 0,5%, segundo a técnica já descrita.

Os resultados das leituras (expressas em Turvação % = 100% — Transmissão%) foram os seguintes :

Caldo maltosado.....	33,0 — 31,5 — 29,5 — 32,5 — 32,0
	33,5 — 33,5 — 30,5 — 31,0 — 32,0
Caldo maltosado fosfatado.....	27,0 — 33,0 — 33,0 — 35,0 — 37,0

Estabelecendo a hipótese de que não há diferença entre os dois grupos de valores obtidos, pertencendo êles a u'a mesma população de crescimentos, procedeu-se à análise pelo teste *t*, como se vê no quadro 4.

O valor de *t* para 13 graus de liberdade, ao nível de 5%, é 2,16. O valor achado não é significativo para rejeitar a hipótese estabelecida.

CONCLUSÕES

Do estudo estatístico apresentado acima, concluímos não ter sido evidenciada ação estimuladora, quer da aureomicina, quer do fosfato bicálcico, sobre o crescimento da levedura.

RESUMO

Os autores procuraram verificar a influência da aureomicina oral e do fosfato bicálcico, constituinte normal do excipiente das cápsulas daquele antibiótico, sobre o crescimento da levedura *Candida albicans*. Não foi evidenciada, pela análise estatística dos resultados, ação estimuladora do crescimento.

SUMMARY

The authors have studied the influence of oral aureomycin and the normal component of its capsules, bicalcium phosphate, on the growth of *Candida albicans*. Statistical analysis of results showed no evidence of growth stimulation.

BIBLIOGRAFIA

- BARON, A. L. — Handbook of antibiotics. New York, Reinhold Publishing Corporation, 1950; p. 63.
- COUNCIL ON PHARMACY AND CHEMISTRY — 1950 — Warning statement to be included in aureomycin hydrochloride, chloramphenicol and terramycin hydrochloride labeling. *J.A.M.A.* **145**: 1267.
- GEIGER, A. J., H. A. WENNER, H. D. AXELROD e S. H. DURLACHER — 1946 — Mycotic endocarditis and meningitis. Case report due to *Monilia albicans*. *Yale J. Biol. Med.* **13**: 259-268. Citado por M. J. Lipnik e colab. in *J. Invest. Dermat.* **18**: 247-260, 1952.
- HARRIS, H. J. — 1950 — Aureomycin and chloramphenicol in brucellosis. *J.A.M.A.* **142**: 161-165.
- KAREL, L. e E. S. ROACH — A dictionary of antibiotics. New York, Columbia University, 1951; p. 27-29.
- LEITNER, Z. A. — 1950 — Vitamin deficiency and antibiotics. *Brit. Med. J.* **1**: 491-492.
- LEVADITI, C., A. VAISMAN, J. HENRY-EVENO e J. VEILLET — Antibiotiques d'origine fongique, bactérienne ou végétale. Paris, Baillière, 1950; p. 108.
- LIPNIK, M. J., A. M. KLIGMAN e R. STRAUSS — 1952 — Antibiotics and fungus infections. *J. Invest. Dermat.* **18**: 247-260.
- MOORE, M. — 1951 — In vivo and in vitro effect of aureomycin hydrochloride on *Syngospora* (*Monilia*, *Candida*) *albicans*. *J. Lab. Clin. Med.* **37**: 703-712.
- PAPPENFORT, R. B. e E. S. SCHNALL — 1951 — Moniliasis in patients treated with aureomycin. *Arch. Int. Med.* **88**: 729-735.
- PRATT e DUFRENOY — Antibiotics. Philadelphia, Lippincott, 1949. Citado in Council of the Pharmaceutical Society of Great Britain — Antibiotics, London, The Pharmaceutical Press, 1952; p. 233.
- TOMASZEWSKI, T. e M. D. POZNAM — 1951 — Side effects of chloramphenicol and aureomycin, with special reference to oral lesions. *Brit. Med. J.* **1**: 388-392.
- WOODS, J. W., I. H. MANNING JR. e C. N. PATTERSON — 1951 — Monilial infections in the therapeutic use of antibiotics. *J.A.M.A.* **145**: 207-211.
- ZIMMERMAN, L. E. — 1950 — *Candida* and *aspergillus* endocarditis. *Arch. Pathology* **50**: 591-605.

NOVO PROCESSO E APARÉLHO — MICROFLUIDOSCÓPIO —
PARA A LEITURA DA REAÇÃO DE KHAN E PARA ANÁLISES,
EXAMES OU LEITURAS DE FLOCULAÇÕES, AGLUTINAÇÕES,
PARTÍCULAS, TURVAÇÕES E OPALESCÊNCIAS EM SOROS,
REAÇÕES, SOLUÇÕES, SUSPENSÕES, EMULSÕES OU SUBSTÂN-
CIAS LÍQUIDAS EM GERAL

por

JARBAS AUGUSTO VIEGAS
Médico do Instituto Adolfo Lutz

Teve origem este trabalho na idéia que nos ocorreu de apresentar um processo de leitura mais atualizado e eficiente para a reação de Kahn (sôro-diagnóstico da sífilis), em virtude de julgarmos incômodos, fatigantes e inseguros os métodos empregados na interpretação dos resultados dessa famosa reação, usada mundialmente na maioria dos laboratórios oficiais e privados.

Traduz-se a reação de Kahn, como é sabido, por um fenômeno de floculação do sôro, proporcional, quantitativamente, ao seu grau de positividade. Nos soros positivos acentuadamente floculados, a verificação dos resultados não oferece dificuldades, mesmo à visão desarmada, desde que o operador faça incidir, na reação, luz convenientemente dosada, no intuito de procurar afastar, tanto quanto possível, a intercorrência dos reflexos muito vivos responsáveis pelo fenômeno de ofuscamento prejudicial à eficiência da leitura.

Já nos soros de positividade fraca ou duvidosa, a leitura se torna relativamente difícil, em razão da aparência delicada e imprecisa dos flóculos, cuja visibilidade, não raro, é obstada pelos efeitos impeditores acima referidos.

Seria óbvio admitirmos que, com a ajuda dos artifícios comuns de ampliação (lupas), o problema ficaria definitivamente resolvido. Entretanto, isso não parece acontecer sempre e a leitura da reação de Kahn vem apresentando não pequena preocupação aos laboratórios, em consequência, de um lado, da impropriedade dos métodos existentes e, de outro lado, da interferência de fatores acidentais, como sejam fadiga ocular de acomodação e mesmo possível deficiência visual do observador — fatores

esses responsáveis, isolada ou conjuntamente, pela falta de uniformidade na interpretação dos resultados.

É fácil, pois, de compreender que, em Serviços de movimento intenso, como acontece, em especial, nos de Saúde Pública e nos de Assistência Social, as imperfeições comumente verificadas nas leituras decorrem do excessivo esforço visual a que é, diariamente, submetido o analista. E essa ocorrência cresce mesmo de importância se a reação se apresentar ligeiramente positiva ou duvidosa, como referimos; nesses casos, a leitura poderá até ser passível de contradições, se acaso nela intervier mais de um observador. Não deve ser esquecido que o antígeno também pode constituir a causa da circunstância apontada, em virtude de apresentar-se, às vezes, granuloso e heterogêneo, a ponto de mascarar a aparência característica das reações negativas.

Os processos correntes de leituras são os seguintes :

a) PROCESSO DO ESFÊLHO CÔNCAVO — Consiste o processo em produzir-se ligeira ampliação das imagens, pela aproximação do tubo a um pequeno espelho refletor côncavo : a leitura é praticada mediante manobras de posição do conjunto, relativamente a uma fonte luminosa natural ou artificial.

b) LEITURA POR INTERMÉDIO DE LUPA COMUM — Esse processo é o mais comumente usado nos laboratórios clínicos e consiste no seguinte : o laboratorista, que deverá estar colocado em frente a uma janela ou nas proximidades de uma fonte luminosa artificial, eleva à altura de um dos olhos, contra a luz, o tubo que contém a reação, mantendo, com a outra mão, uma lupa interposta entre este e o olho observador, a fim de realizar a leitura (figura I-AB). Sendo esta manobra repetida tantas vezes quantas forem as unidades a examinar, compreende-se quão incômoda e fatigante se apresenta para o analista a leitura continuada de um elevado número de reações.

Na esperança de afastar os inconvenientes que vimos de apontar, procuramos estudar uma maneira mais prática e segura de efetuar tais leituras, no objetivo principal de oferecer resultados mais constantes e regulares. E, animados nesse propósito, conseguimos chegar, com alguma persistência, ao resultado que ora temos a satisfação de submeter ao juízo dos nossos prezados colegas.

A leitura efetuada no Microfluidoscópio fundamenta-se no emprêgo da iluminação artificial indireta em câmara escura (figura I-D); além de posição confortável, o processo oferece segurança na leitura que poderá ser praticada ininterruptamente, sem provocar qualquer dos inconvenientes próprios dos métodos comuns já referidos.

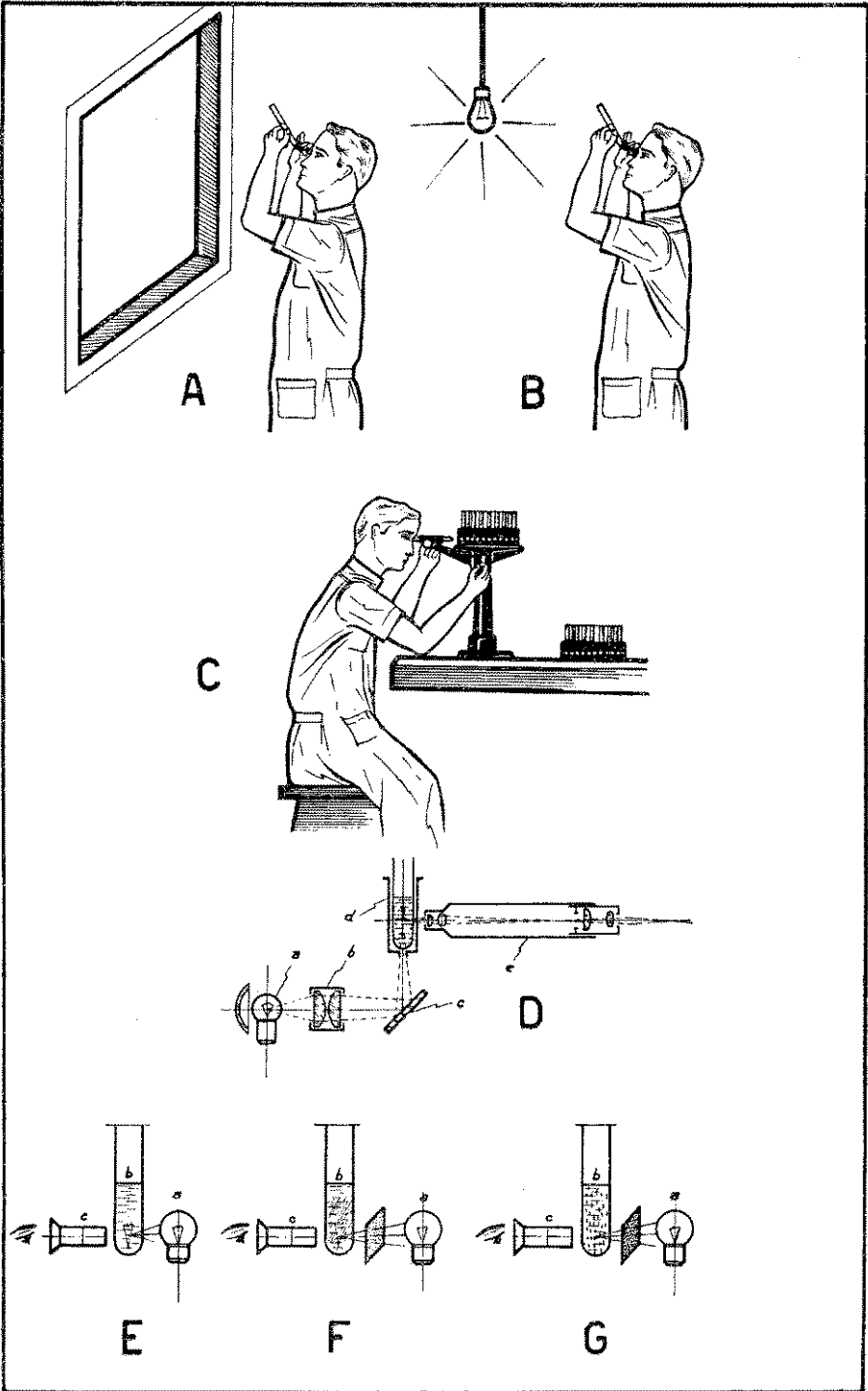


Figura 1

A figura 1-C mostra a posição do analista por ocasião das leituras. A possibilidade de substituição da coroa-suporte permite operar continuamente, bastando alterná-la por unidades sobressalentes previamente abastecidas por um auxiliar de laboratório.

Lisongeiras ao nosso aparelho foram as apreciações que teve oportunidade de fazer o ilustre Professor Kahn, por ocasião de sua visita ao Departamento de Microbiologia de nossa Faculdade de Medicina. Suas palavras foram de animador entusiasmo, ao verificar a simplicidade e segurança na leitura de sua reação.

Esclarecendo as vantagens do presente método, consideremos, a título de ilustração, um objeto interposto entre a vista de um observador e uma fonte luminosa qualquer. Nessa situação, dificilmente lhe será possível perceber, com clareza de detalhes, as características primordiais desse objeto, senão apenas a sua silhueta. O mesmo não sucederá, entretanto, se a luz o atingir por um de seus lados; a sua imagem e detalhes poderão ser observados, então, com maior riqueza de pormenores.

Se agora realizarmos as mesmas experiências em ambiente totalmente escuro, onde uma estreita réstea de luz penetrasse à guisa de fonte luminosa, e se interpuzermos, nesse trajeto luminoso, uma laranja, por exemplo, o observador, postado contra a luz, notará, no primeiro caso, somente um círculo escuro delimitado pelos seus contornos; verá, no segundo caso, uma quarta parte da laranja perfeitamente iluminada e verá, ainda, outra quarta parte iluminada com menos intensidade pelos raios luminosos refletidos. O observador terá, desse modo, possibilidade de estudar os detalhes da laranja, sentindo, também, o que é importante, a impressão do seu relêvo esférico.

Mutatis mutandi, tudo ocorre de maneira semelhante a este último caso na câmara escura do nosso Microfluidoscópio.

A figura 1-D mostra, de conformidade com as nossas experiências preliminares, a solução teórica encontrada para a perfeita iluminação dos flóculos na reação de Kahn: a fonte luminosa "a" acha-se colocada abaixo do prolongamento do tubo microscópico "e" e emite raios luminosos, que, se refletindo no espelho "c", após atravessarem o condensador "b", iluminam toda a massa do fluido "d"; o olho observador recebe, pelo tubo microscópico "e", as imagens dos flóculos ampliadas, convenientemente, e contrastadas na câmara escura "f".

A figura 1-EFG esclarece as dificuldades produzidas pela iluminação direta na apreciação dos flóculos: na figura 1-E, a fonte luminosa "a" projeta seus raios diretamente na massa fluida "b", produzindo ofuscamento das imagens, que se tornam invisíveis praticamente. Além disso, o filamento luminoso da fonte "a" é projetado no olho observador, tornando o exame

impossível; a figura 1-F reproduz experiência semelhante, porém realizada mediante a interposição de um filtro colorido "d", entre a fonte luminosa "a" e o elemento "b"; os resultados foram praticamente semelhantes aos apresentados na figura 1-E; a figura 1-G nos revela, ainda, a mesma experiência com a interposição de um filtro branco fosco "d" entre a fonte luminosa "a" e o fluido em exame "b"; o campo tornou-se, neste caso, mais brando, sendo possível perceber as imagens à maneira de finas estriações róseas, provavelmente em consequência da maior condensação de raios nesta região da imagem.

Entretanto, o emprêgo da iluminação indireta em câmara escura não se limita apenas à leitura da reação de Kahn, como esclarece o título dêste trabalho. A sua aplicação é mais generalizada no próprio terreno da pesquisa clínica, onde podemos citar os numerosos casos de reações de floculação, aglutinação e turvação, ao lado de exames das mais variadas naturezas.

Nas indústrias química e bromatológica, o processo da câmara escura com iluminação indireta se nos afigura de grande interêsse prático, principalmente na verificação da limpidez de fluidos diversos, como águas potáveis e bebidas em geral.

Todavia, na indústria farmacêutica, parece ter o processo uma das suas mais importantes aplicações, sabido como é que a filtração dos produtos injetáveis constitui a grande preocupação das secções técnicas dos laboratórios idôneos.

Mediante o exame microfluidoscópico de numerosos produtos injetáveis, das mais variadas procedências, tivemos oportunidade de nos certificar, convenientemente, acêrca das causas reais e originárias dos processos de infiltração tissulares mais ou menos intensos e duradouros, endurecimentos e, até mesmo, de supurações assépticas, observados rotineiramente na clínica diária, em pacientes submetidos a tratamento por injeções nas regiões glútea e deltóide.

E não se diga tratar-se de incúria ou de negligência das secções técnicas dos laboratórios responsáveis. A nosso vêr, a inexistência de meios de contrôle mais precisos e científicos seria a razão primária do empirismo ainda reinante no seio de numerosas indústrias congêneres.

Entretanto, deante da realidade que a microfluidoscopia vem de revelar, acreditamos que essas deficiências serão corrigidas, sem demora, em benefício da Saúde Pública e do renome da já prestigiosa indústria de produtos terapêuticos do país.

É bem de ver, pois, que o exame acurado do problema por parte dos poderes públicos responsáveis na matéria se impõe, paralelamente, como medida da maior oportunidade.

Além do contrôlo da limpidez, o processo, no sector farmacêutico, se aplica também na pesquisa de pirogênios (efeito Tyndall), bem como no estudo da estabilidade das soluções.

O campo da microfluidoscopia parece ser extenso na era atual em que a Civilização, impulsionada por suas admiráveis conquistas, tem atingido, no terreno técnico-científico, um plano de desenvolvimento jamais sonhado.

O APARÉLHO — FIGURAS 2, 3, 4 e 5

PERSPECTIVA EM PERFIL — Figura 3 — n.º 1, base; n.º 2, coluna-suporte; n.º 3, parafuso do reostato regulador da intensidade luminosa; n.º 4, chave interruptora da corrente elétrica; n.º 5, parafuso fixador da altura regulável da coluna-suporte; n.º 6, parafuso de rotação da coroa-suporte; n.º 7, câmara de iluminação onde estão contidos a fonte de iluminação e os elementos acessórios que constituem o sistema iluminante; n.º 8, suporte do tubo microscópico; n.º 9, tubo microscópico provido de ocular e de objetiva substituíveis; n.º 10, parafuso da cremalheira do microscópio; n.º 11, alavanca móvel do espelho refletor; n.º 12, coroa-suporte onde se situam as câmaras escuras; n.º 13, orifício externo da câmara escura; n.º 22, cordão de tomada de corrente.

CORTE LONGITUDINAL — Figura 4 — n.º 13, orifício externo da câmara escura; n.º 14, orifício de entrada de luz para a câmara escura; n.º 15, espelho refletor parabólico; n.º 16, fonte luminosa; n.º 17, lentes condensadoras; n.º 18, espelho refletor direcional dos raios luminosos; n.º 19, câmara escura; n.º 20, orifícios de entrada para a câmara escura; n.º 23, transformador de corrente elétrica; n.º 24, fios de ligação entre a fonte luminosa e o transformador.

PROJEÇÃO DO APARÉLHO DE CIMA PARA BAIXO — Figura 5 — n.º 20, orifícios de entrada para a câmara escura, destinados a tubos ou outros recipientes transparentes de secção circular de 12 mm, podendo, todavia, apresentar diâmetros diversos em coroas-suportes acessórias; n.º 21, orifícios em número de três, de entrada para as câmaras escuras, destinados a tubos de faces planas.

DISPOSITIVO DE AÇÃO ROTATIVA DA COROA-SUPORTE — O acionamento do parafuso 6, em sentido rotativo para a direita ou para a esquerda, imprime rotação ao dispositivo 7 e, conseqüentemente, à coroa-suporte 12, à custa do engrenamento contínuo dos 4 pinos existentes no segmento superior do parafuso 6, na cremalheira 27, esculpida na face interna, junto ao bordo inferior da parte montante do dispositivo 7; por outro lado, o parafuso 25, provido, em sua extremidade superior, de pequena



Figura 2 — Protótipo do microfluidoscópio.

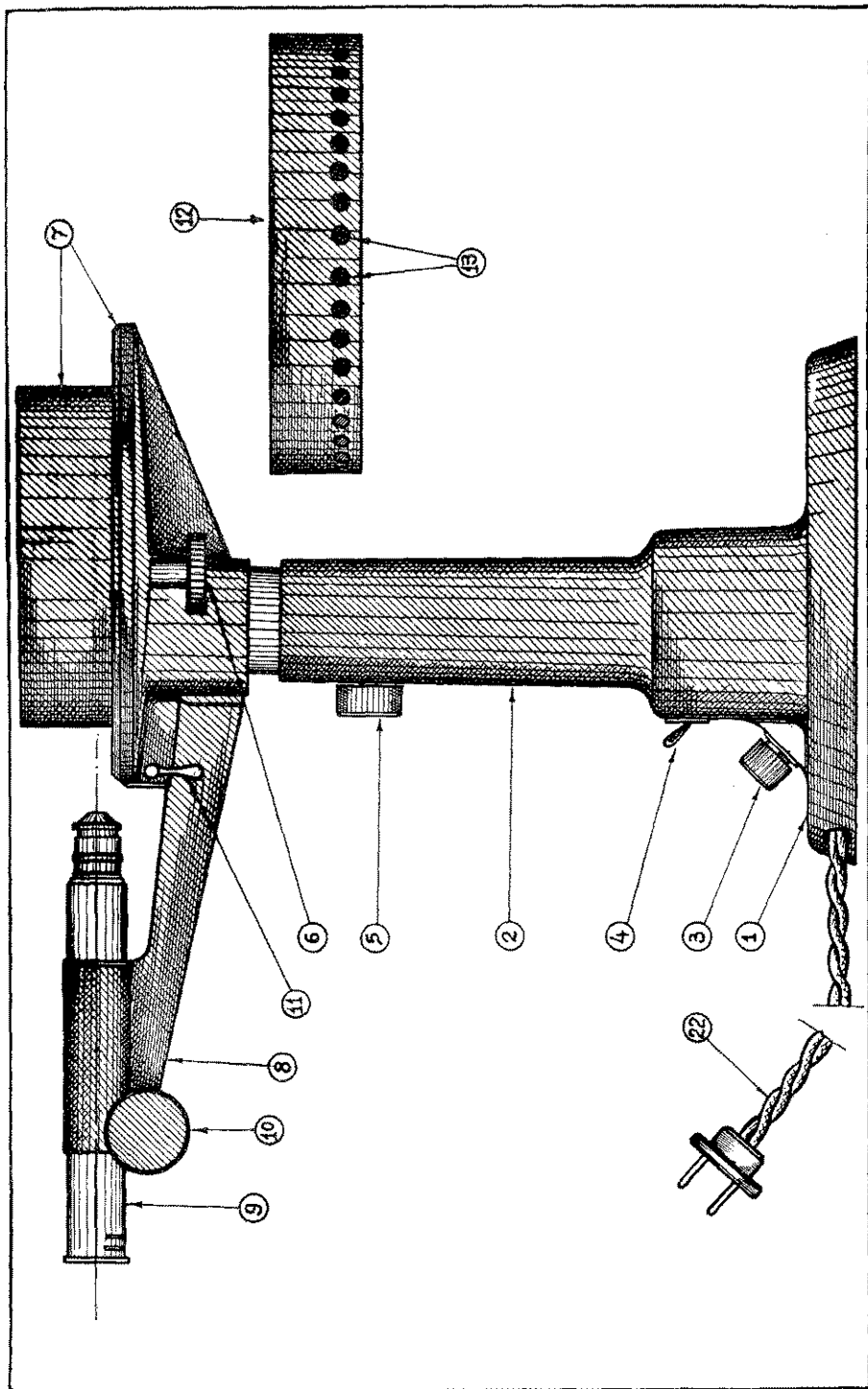


Figura 3

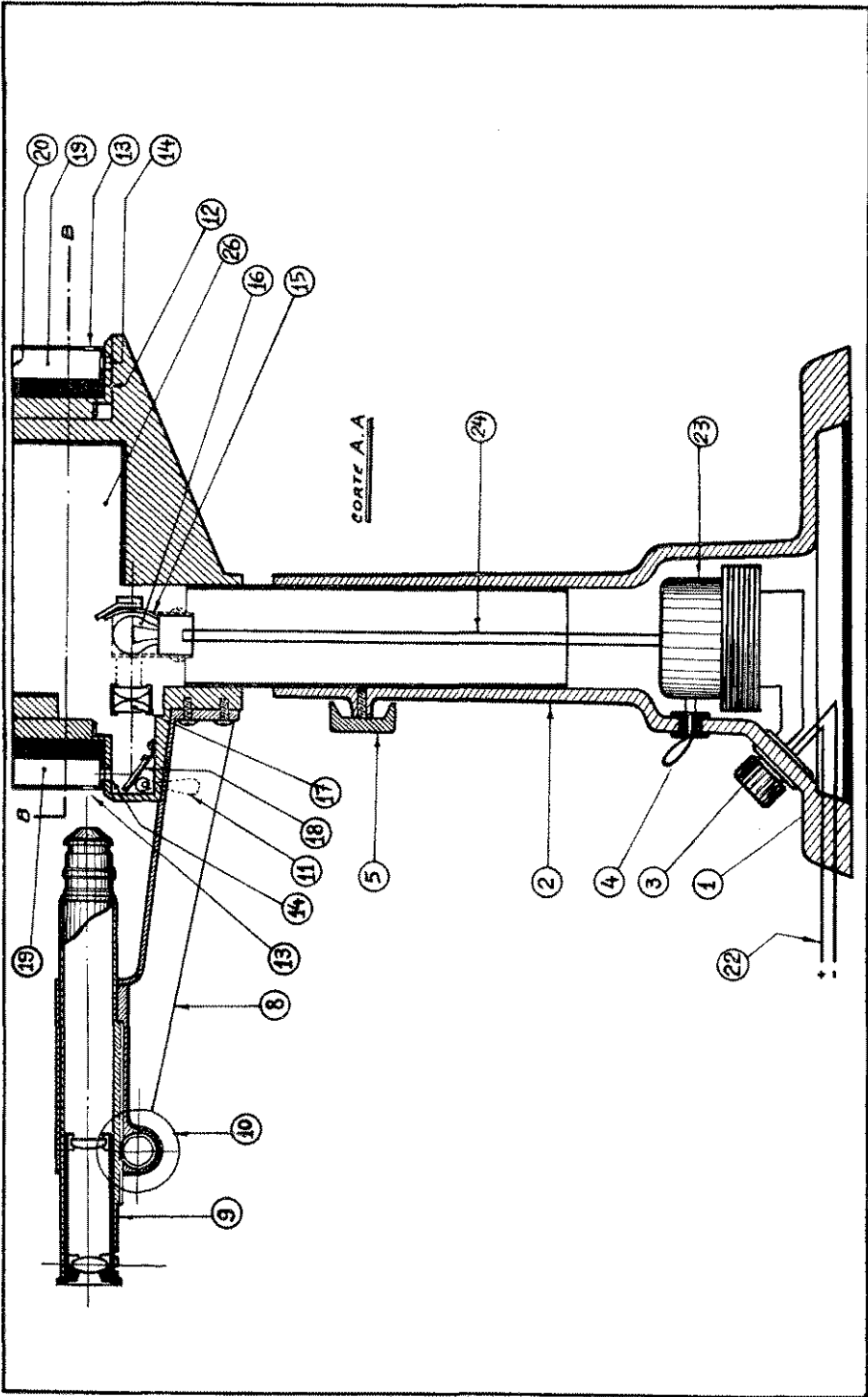


FIGURE 4

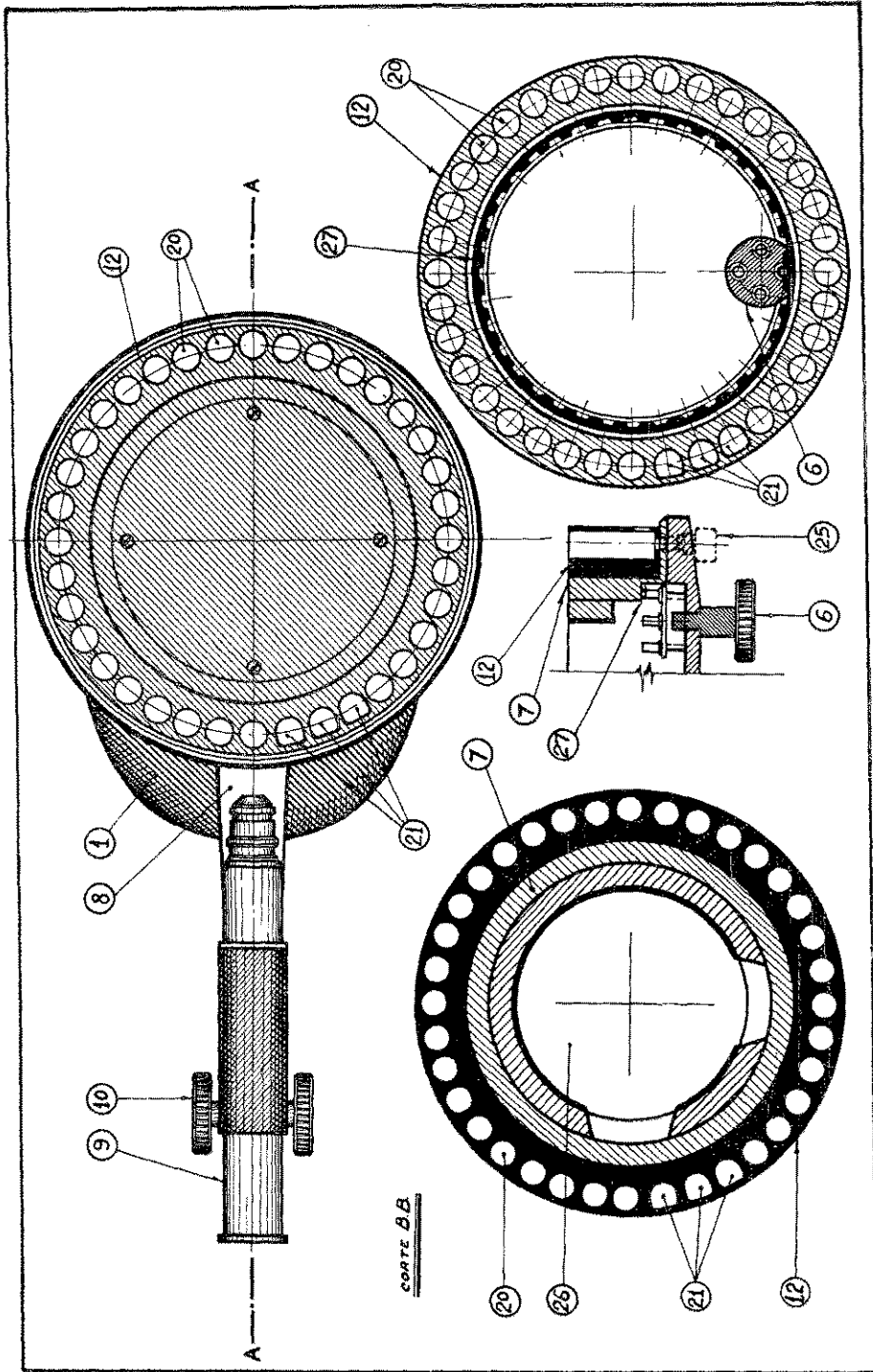


Figura 5

esfera de pressão, produz, com o concurso dos orifícios 14 que aí assumem nova função, as paradas da coroa-suporte nos pontos de coincidência entre o eixo do tubo microscópico e o centro dos orifícios visores 13.

FUNCIONAMENTO DO APARÉLHO — MICROFLUIDOSCOPIA

Sentado à mesa, tendo à frente o aparelho provido dos tubos ou de outros recipientes adequados com material a examinar, o laboratorista regula a altura conveniente do tubo microscópico, deslocando o dispositivo móvel da coluna-suporte, que será fixado por intermédio de seu respectivo parafuso (5).

Ligada a chave interruptora de corrente (4), a intensidade luminosa é acertada através o parafuso do reostato (3); movimentando, cuidadosamente, a alavanca (11) do espelho refletor, o feixe luminoso é dirigido ao plano mais adequado do campo fluidoscópico. A focalização é, em seguida, reajustada por meio do parafuso da cremalheira (10), da alavanca (11), do espelho e do parafuso do reostato (3).

Com os cotovelos apoiados sobre a mesa, tendo, na mão direita, o parafuso de rotação da coroa-suporte (6) e, na mão esquerda, o parafuso da cremalheira do microscópio (10), o laboratorista realizará os exames, seguidamente, um após outro, imprimindo movimento de rotação à coroa-suporte para a direita ou, quando necessário, para a esquerda.

Durante os exames, o observador deverá habituar-se, de preferência, ao uso do olho esquerdo.

A posição horizontal, à altura dos olhos, do tubo microfluidoscópico provido de ocular e de objetiva adequadas à natureza de cada exame, oferece posição confortável ao operador, que terá à mão, em situação cômoda para os braços, que são mantidos sobre a mesa, todos os elementos de controle do aparelho — parafuso da cremalheira, reostato, alavanca reguladora do espelho refletor e parafuso controlador do movimento de rotação da coroa-suporte.

Caracterizando-se a microfluidoscopia pelo exame em câmara escura de substâncias líquidas, a situação do aparelho no laboratório deverá ser cuidadosamente observada, de maneira a torná-lo abrigado, quanto possível, da influência dos reflexos luminosos muito vivos. Essa é uma das condições necessárias à clareza das leituras, que seriam prejudicadas pela luminosidade ambiente refletida à câmara escura, por intermédio da parte externa dos tubos.

A iluminação do campo microfluidoscópico é outra circunstância a ser observada com cuidado. A fim de que as leituras sejam praticadas em

boas condições, o analista deverá, nas diversas fases do exame, fazer incidir o feixe luminoso, convenientemente dosado pelo reostato, ora diretamente no sentido do plano focalizado, ora de maneira tanto ou quanto indireta, a fim de tornar-se possível a observação e o estudo da estrutura e da natureza dos elementos em jôgo. A alavanca do espelho refletor, cuidadosa e convenientemente manobrada, permite ao observador controlar, à sua vontade, a direção do feixe luminoso. Deve-se ter sempre em mente que o sucesso nas conclusões depende, particularmente, da perfeita iluminação do campo microfluidoscópico.

É necessário lembrar-se, todavia, que o campo fluidoscópico é tanto mais iluminado quanto maior for o número de elementos existentes em suspensão no fluido, a ponto de se tornar impossível a focalização quando a sua limpidez se apresentar perfeita, pois que, nesse caso, a câmara se mostra isenta de iluminação e, portanto, absolutamente negra.

O uso continuado do aparelho dará ao estudioso, em pouco tempo, o necessário desembaraço, permitindo-lhe diferenciar, com segurança, os diversos elementos, como ocorre na reação de Kahn, por exemplo, onde poderão ser afastadas as falsas interpretações decorrentes das eventuais floculações de fibrina ou da falta de homogeneidade do antígeno.

Entretanto, para se obter condições mais satisfatórias de exame, torna-se necessário lançar mão, em determinados casos, de ligeiros artifícios de técnica. É o que acontece quando a turvação do fluido se apresentar muito intensa, criando, dessa forma, obstáculo à livre passagem do feixe luminoso. Ou, então, quando os meniscos da superfície do fluido se localizarem à altura do centro do campo fluidoscópico, em virtude de seu reduzido volume, produzindo, nesse ponto, a convergência dos raios luminosos e a conseqüente reflexão na vista do observador. Em ambos os casos, aconselhamos juntar pequeno volume de solução fisiológica, a fim de afastar os inconvenientes apontados. A nossa experiência nos tem ensinado que êsse recurso de técnica não apresenta inconveniente algum, como temos observado, freqüentemente, nos casos levemente positivos ou negativos das reações de aglutinação e de floculação.

Relativamente ao jôgo ótico, a sua escolha está naturalmente condicionada à natureza do fluido a ser examinado. Nas leituras de floculações, aglutinações, partículas, turvações, etc., a ampliação não deverá ir além de 10 a 12 diâmetros, como no contrôle da limpidez de produtos injetáveis, da leitura da reação de Kahn, das floculações e aglutinações em geral.

Ampliações maiores — 200 diâmetros — poderão ser utilizadas em casos especiais, a exemplo da aglutinação de hemácias para fins diversos, devendo-se, nesses casos, serem usados tubos especiais de faces planas, a fim de evitar-se aberrações e deformações de imagens, dada a pequena dis-

tância frontal necessária às ampliações desses tipos. O Microfluidoscópio dispõe de 3 câmaras escuras destinadas, especialmente, a receberem esses tubos, que são imobilizados contra a parede anterior da câmara escura por intermédio de molas adequadas.

RESUMO

O autor apresenta, neste trabalho, um novo processo de leitura e respectivo aparelho, para a reação de Kahn e para análises ou exames de floculações, aglutinações, partículas, turvações e opalescências em soros, reações, suspensões, emulsões ou em fluidos líquidos em geral, em virtude de lhe parecerem falhos e imprecisos os atuais processos.

SUMMARY

The author presents, in this paper, a new process and respective apparatus for reading the Khan reaction and for analysis or reading flocculations, agglutinations, particles, turbidities and opalescences in sera, reactions, suspensions, emulsions or in liquids in general, because the processes actually in use do not prove to be satisfactory.

É de nosso dever deixar registados, no presente trabalho, os nossos agradecimentos à firma D. F. Vasconcellos, essa esplêndida organização especializada, nesta praça, na fabricação de aparelhos óticos e que constituiu, sem favor, uma das glórias da indústria paulista.

Graças à cooperação de seu presidente, Sr. Dr. Décio F. Vasconcellos, e à boa vontade e competência de seu diretor técnico, Sr. Dr. Oscar Sodi, e de seu escolhido corpo de auxiliares técnicos, pudemos tornar possível a demonstração prática de nossa idéia, através o prototipo do fluidoscópio ali fabricado e cujas características de acabamento, como se pode verificar facilmente, superam, por vêzes, a aparelhos óticos das melhores procedências estrangeiras.

Ao Sr. Eugênio C. Lima, sub-chefe da sub-seccção de desenho deste Instituto, e à D. Emília A. Almeida, desenhista da mesma sub-seccção, os nossos agradecimentos pelos desenhos que ilustram o presente trabalho.

ALGUNS ASPECTOS DO CAMPO MICROFLUIDOSCÓPICO
SOME ASPECTS OF THE MICROFLUIDOSCOPIC FIELD

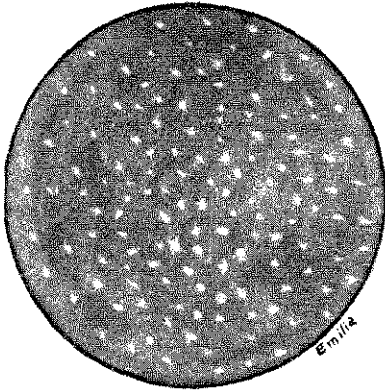


Figura 6 — Reação de Khan forte-
mente positiva.

Figure 6 — Khan reaction highly
positive.

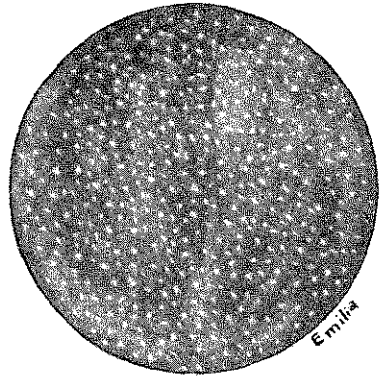


Figura 7 — Reação de Khan media-
namente positiva.

Figure 7 — Khan reaction of medium
positivity.

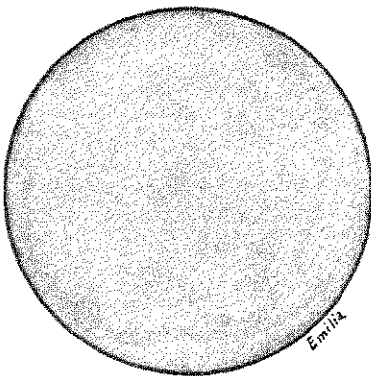


Figura 8 — Reação de Khan leve-
mente positiva.

Figure 8 — Khan reaction slightly
positive.

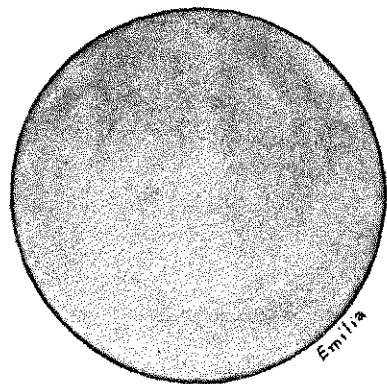


Figura 9 — Reação de Khan
negativa.

Figure 9 — Khan reaction negative.

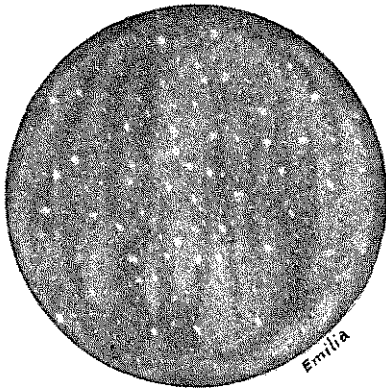


Figura 10 — Reação VDLR fortemente positiva.

Figure 10 — VDRL reaction highly positive.

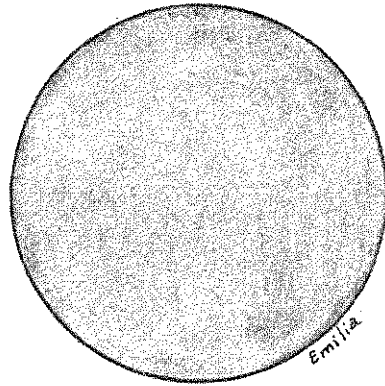


Figura 11 — Reação VDLR levemente positiva.

Figure 11 — VDRL reaction slightly positive.

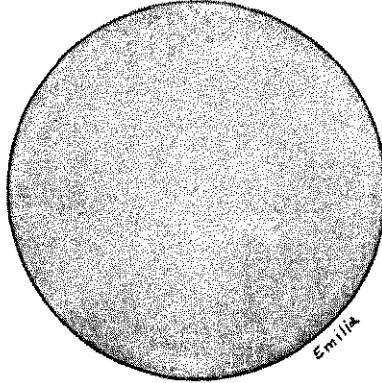


Figura 12 — Reação VDLR negativa.

Figure 12 — VDRL negative.

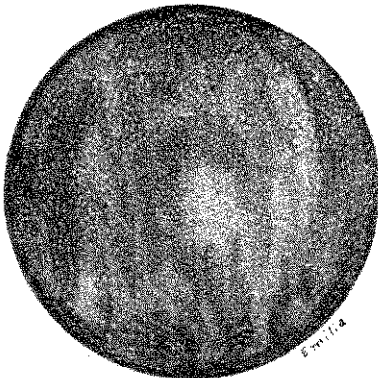


Figura 13 — Reação de Widal levemente positiva.

Figure 13 — Widal reaction slightly positive.

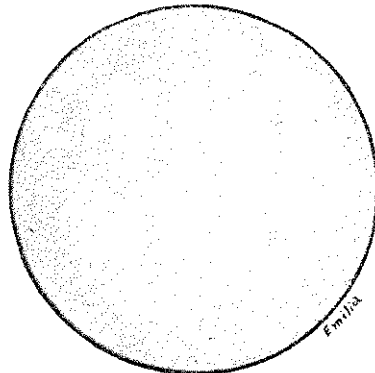


Figura 14 — Reação de Widal negativa.

Figure 14 — Widal reaction negative.

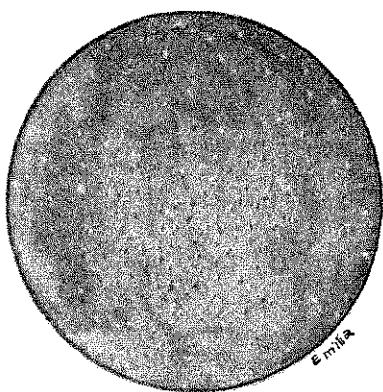


Figura 15 — Aglutinação de hemácias.
Figure 15 --- Agglutinations of he-
matias.

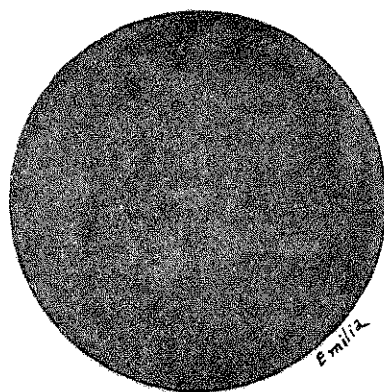


Figura 16 --- Hemácias em suspensão
não aglutinadas.
Figure 16 — Hematias in suspension
not agglutinated.

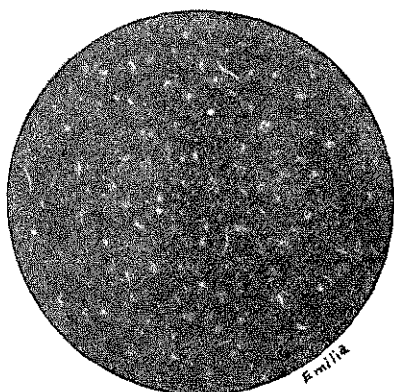


Figura 17 — Produto injetável de
má filtração.
Figure 17 --- Injectable product of
bad filtration.

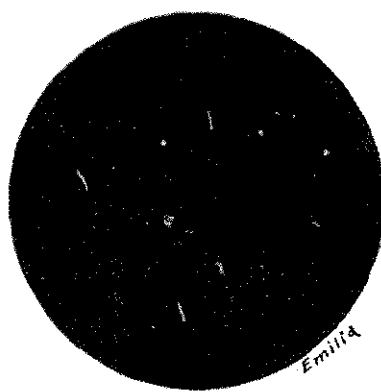


Figura 18 — Produto injetável de
filtração aceitável.
Figure 18 — Injectable product of
acceptable filtration.

NEW PROCEDURE AND APPARATUS — MICROFLUIDOSCOPE
— FOR READING THE KAHN REACTION AND FOR ANALYSIS
OR READING FLOCCULATIONS, AGGLUTINATIONS, PARTICLES,
TURBIDITIES AND OPALESCENCES IN SERA, REACTIONS,
SOLUTIONS, SUSPENSIONS, EMULSIONS OR LIQUID
SUBSTANCES IN GENERAL.

This work is a result of my efforts to develop a more efficient and up-to-date process for reading the Kahn reaction (diagnostic serum for syphilis) inasmuch as I feel that the methods used nowadays for interpreting this famous reaction — now in use in the majority of private and public clinical laboratories all over the world — are awkward, tiresome and unreliable.

As is well known, the Kahn reaction is characterized by a flocculent manifestation in the serum, which is quantitatively proportional to its degree of positivity. In serum where the flocculence is intense, the reading of the results offers few difficulties even with the naked eye, providing that the analyst, when taking the reading, lets the right beam of light fall on the tube and holds it in such a way as to eliminate, as much as possible, the sharp reaction responsible for the darkshadow phenomenon which frequently impedes the taking of an accurate reading.

In the case, however, of weak or doubtful flocculence an accurate reading becomes relatively difficult due to the hazy indistinct aspect of the floccules, the visibility of which is very often obscured by the factors mentioned above.

It seems obvious that with the help of common means of magnification, as for instance an adequate type of lens, the problem could be definitely solved. However, this does not always happen, and how to obtain an accurate reading of the Kahn reaction continues to be a serious problem of clinical laboratories, due, I repeat, to the inadequacy of present methods; and also to a combination of other factors such as, for instance, to eye fatigue or defective vision on the part of observer, all which factors separately or in combination contribute to the lack of uniformity in the interpretation of the results.

It is easy to see how, in busy laboratories everewhere, where hundreds of reactions are taken daily — such as Public Health and Social Assistance laboratories — the analyst is under such an excessive visual strain that deficiencies easily result; and these facts are more valid in cases where the reaction is doubtful or only faintly positive, as mentioned above. In these cases the reading is subject to contradiction if more than one person performs it. One of the contributing factors to the failure is the antigen, which becomes slightly heterogeneous, thus hiding the peculiar aspect of the negative result.

The usual Reading Procedure are as follow :

a) **CONCAVE MIRROR PROCESS.** — This process involves a slight amplification of images by putting the tube next to a concave reflecting mirror. The reading is taken by changing the position of the elements in the set with mutual reference to one another and to a natural or artificial source of light.

b) **READING BY DIRECT NATURAL OR ARTIFICIAL LIGHT, WITH A LENS.** — This is the method most commonly used in clinical laboratories and consists of the following procedure: the analyst, who is in front of a window or source of artificial light, with one hand raises the tube containing the reaction to the level of one of his eyes, at the same time holding a lens between the latter and the tube with the other hand, in such a way as to obtain most accurate reading (Figure 1-AB). Since this procedure must be repeated for each unit examined, the fatigue involved in the continuous reading of a large number of reactions becomes very great.

Hoping to avoid all above-mentioned shortcomings, I tried to find a more practical and reliable way of taking readings. I now have the pleasure of submitting it to my esteemed colleagues for their approval of the results of my persistent and enthusiastic efforts.

In the type of apparatus that I developed, the reading is taken by indirect artificial light in a dark chamber. Besides comfort of position, the method offers the operator an absolute control of the reading, which can be prolonged continuously without the disadvantages and shortcomings inherent to the usual methods mentioned above.

Figure 1-C shows the position of the analyst while taking readings. The removable supporting-ring permits uninterrupted readings by the use of spare units that a laboratory assistant may easily have on hand after preparing them for use.

Professor Kahn, in his recent visit to the Microbiological Department of our Medical School, was very complimentary and enthusiastic in his remarks regarding the simplicity and accuracy of my method of reading his reaction, always under ideal conditions of illumination.

By way of pointing out the advantages of viewing with indirect lighting, let me consider, for example, an object placed between the observer's eye and any source of light. Under these conditions it is impossible to check the essential characteristics of said object inasmuch as he can only see the silhouette of it. It is different, however, when the light strikes the object laterally: in this case it can be examined in complete detail.

Now, if we make the same experiment in a totally dark room where there enters a narrow streak of light, putting an orange, for instance, in front of the light, we will notice in the first case that the orange will appear only as a dark disk with illuminated periphery. In the second case we will see in front of us one fourth completely illuminated and another fourth, less intensely illuminated by reflected rays.

It will be easy for the observer to analyze in detail the characteristics of the orange, above all, getting a clear impression of its spherical shape. This is the type of result that our microfluidoscope's dark chamber produces.

Figure 1-D illustrates the initial experiments I have made, which led to the theoretical solution for obtaining perfect illumination of the floccules in Kahn's reaction: the light source "a" is placed beneath the extremity of the microscopic tube "e"; it emits rays which, reflecting in the mirror "c" after having passed through a condenser "b" illuminates the whole mass of fluid "d"; the eye of the observer receives, through the microscopic tube, the visual image of the floccules adequately enlarged and neatly standing out against the back black-ground.

Figures 1-EFG illustrate the difficulties encountered in examining floccules by direct light. In figure 1-E, the light source "a" projects its rays directly into the fluid "b", producing a blurring of the objects, which becomes practically invisible. Besides, the filament of light "a" is projected directly into the observer's eye, rendering accurate observation impossible. Figure 1-F illustrates a similar experiment made by using the color filter "d" placed between the light source "a" and the element "b", where the results are essentially identical to those outlined in figure 1-E. Figure 1-G shows still the same experiment performed with a white lackluster filter placed between the light source "a" and the fluid "b" under examination. In this case, the field becomes softer and it is possible to distinguish the images of fine rose-colored striations, probably due to the condensation of the light rays in this region of the image.

However, as the title of this work indicates, the use of indirect lighting in a dark chamber is not limited to reading the Kahn reaction. Its use is more generalized in the work of clinical laboratories where I may point out a great number of cases of flocculence, agglutination and turbidity among other cases of this nature.

In the food and drug industry the use of the dark chamber and indirect lighting would be indicated for checking the limpidity of liquids such as drinking water and drinks in general.

But its real importance is shown when it is applied to the pharmaceutical industry, where the filtration of products for injection is the constant worry of the experts. Checking a great number of products for injection with the help of the Microfluidoscope, I was able to explain the origin of the somewhat intense and persistent penetration process, stiffness of tissues and even aseptic suppuration. These phenomena are seen everyday in clinical routine, in patients that suffer injection on the gluteal and deltoid regions.

The technical departements of laboratories could be accused of being careless or negligent; but it is not the case. The lack of better methods of control is responsible for the empirical procedures established in the industry. I trust that the technicians will not hesitate in adopting a better method, and in improving it more and more, so as to honor the pharmaceutical industry. In this branch of industry, the microfluidoscopy has other application besides control of limpidity; it is useful if pyrogens are investigate (Tyndall effect) and so it is when solution are checked as to their stability.

It is impossible to predict all the possible applications of microfluidoscopy on the fields of scientific research. I believe it can fill a great gap at the time when Civilisation is just achieving undreamed development in technical fields.

THE EQUIPMENT — FIGURES 2, 3 4 and 5

THE EQUIPMENT IN PROFILE — FIGURE 3. Number 1, base; 2, supporting column; 3, screw of rheostat that controls the intensity of the light source; 4, switch for the electric current; 5, screw that keeps the supporting-column in the desired height; 6, screw that turns the supporting-ring; 7, chamber of illumination, where are the source of light and the implements of the illuminating set; 8, holder for the microscopic tube; 9, microscopic with removable ocular and objective; 10, screw of the cog-wheel of the microscope; 11, lever that moves the reflecting mirror; 12, supporting-ring where the dark chamber are; 13, external opening to the dark chamber; 22, electric wire for plug.

LONGITUDINAL SECTION — FIGURE 4. — 13, external opening to the dark chamber; 14, opening which lets the rays penetrate the dark chamber; 15, parabolic reflecting mirror; 16, source of light; 17, lenses for condensation; 18, reflecting mirror; 19, dark chamber; 23, transformer of the electric current; 34, wires connecting the source of light with the transformer.

THE INSTRUMENT SEEN FROM ABOVE — FIGURE 5. — 20, opening in the dark chamber to hold tubes or other receptacles of transparent substance with a circular section of 12 mm; however these tubes can be of other diameters, in spare supporting-ring; 21, three openings in the dark chamber for flat-wall tubes.

ROTATOR OF THE SUPPORTING-RING — The screw 6 being turned to left or to right produces a rotation of the element 7, and as a consequence, of the supporting-ring 12 also, for there is a continuous dovetailing of the four pins existing in the upper part of the screw 6 with the cog-wheel, which has furrows in its internal wall, bottom edge of the element 7; on the other hand, the screw which has in its upper end a small sphere produces (together with the holes 14 now used in a different way) the stopping of the supporting-ring at the coincident points between the microscopic tube and the middle of the holes 13 for looking in.

OPERATION OF EQUIPMENT — MICROFLUIDOSCOPY

Seating by the table, having the equipment in front of him, with tubes or other adequate receptacles in which there is the matter to be tested, the analyst keeps the microscopic tube to the desired level by handling the movable device of the supporting-column, which will be fastened by the screw 5.

After turning the switch 4, the intensity of the light is regulated by turning the screw of the rheostat 3; handling the lever 11 of the reflecting mirror 18 very carefully, the beam of light is driven to the point of the microfluidoscopic field that is most suitable. The focalisation is then verified by turning the screw of the cog-wheel 10, the lever of the mirror 11 and the screw of the rheostat 3.

Placing his elbows upon the table, having the screw which turns the supporting-ring 6 in his right hand, the screw of the cog-wheel 10 in his left, the analyst will perform many readings without interruptions, only turning the supporting-ring to the right, or to the left if necessary.

While operating, the observer must try to use the left eye.

The tube of the Microfluidoscope (to which is attached the ocular and objective varying with the nature of each test) being placed horizontally at the level of the observer's eye, can be easily handled. The analyst, who is comfortably seated, will put his elbows upon the table, so as to have at arm's length all the necessary means of control: screw of the cog-wheel, movable lever of the mirror, rheostat and screw that turns the supporting-ring.

Considering that microfluidoscopy is characterized by the examination of liquid matter in a dark chamber, a right position should be provided for the equipment, for it must be protected, as much as possible, from intense beams of light; otherwise the light should be reflected into the dark chamber through external walls of the tube.

The lighting of the microfluidoscopic field must be carefully watched. In order to make a successful reading, the analyst should drive the beam of light (properly regulated by the rheostat) sometimes directly and sometimes indirectly upon the ideal point of the fluid to be tested. By doing so, he can observe the structure of the elements, which does not show when intensely lighted. The lever of the mirror when handled by the analyst will drive the beam of light to any chosen point. It is important to provide the adequate lighting of the microfluidoscopic field if a good diagnosis is wanted.

We must not forget, however, that the microscopic field is better illuminated when there is a great number of elements in suspension; sometimes, when the fluid is absolutely limoid, the dark chamber remains in complete darkness.

The constant use of this equipment will give the analyst a great skill, so as to let him recognize at once the structure and nature of the material dealt with. This happens with the Kahn reaction, where the false interpretation due eventually to fibrine flocculence or lack of homogeneity of the antigen are entirely removed. In some occasions, it is necessary to make use of little technical tricks, as for instance when the turbidity of the fluid is too great and does not allow the light to pass through it. Under this circumstance, a little physiological solution must be added. This has proved successfully in a long period of practice.

In order cases the menisci on the upper part of the fluid reach the center of the microfluidoscopic field, thus bringing some difficulties, since there is convergence and reflection of rays precisely in that point. This happens whenever the quantity of the fluid is too small. It is wise to double the volume or add some physiological solution.

I have learned from constant practice that this little technical trick brings no inconvenience, specially in negative or slightly positive results of flocculence reactions.

Each kind of fluid to be tested will demand a different optical set, adequate to its nature: when taking the reading of flocculence, agglutination, particles, turbidity, etc., the magnification should not be larger than 10 diameters, as when reading Kahn reaction and serum-agglutinations.

Larger magnifications — 200 diameters — are indicated in special cases, as for instance the agglutination of red corpuscles. But, in this case, tubes with flat walls will be used in order to avoid distortions or disfigurement of the images, caused by the closeness of the objective to the observer's eye and to the inadequacy of tubes with round walls. The Microfluidoscope has three special chambers to be used in tests of the type described above.

A set of springs fastens the tubes to the front wall where they are kept still.

Figures 6 to 18 show some aspects of the microfluidoscopic field.

