

REVISTA  
DO  
INSTITUTO ADOLFO LUTZ

LABORATÓRIO DE SAÚDE PÚBLICA

VOL. 13 • 1953 • NÚMERO ÚNICO



SÃO PAULO — BRASIL

## REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

**Fundador:**

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

**Diretor:**

DR. ARIOSTO BÜLLER SOUTO

A Revista do Instituto Adolfo Lutz é publicada sob a forma de fascículos, que serão reunidos em volume, e não tem data certa 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 Central 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. 13 • 1953 • NÚMERO ÚNICO



SÃO PAULO — BRASIL

## SUMÁRIO

ARIOSTO BÜLLER SOUTO e ALFREDO QUIROGA C. — Condições higiênicosanitárias e alimentares dos trabalhadores da Estrada de Ferro Corumbá-Santa Cruz — Estudos e observações .....	5
JAIR CORRÊA CARVALHO — <i>Aphelenchoides coffeae</i> em raízes de gerânio.....	33
JAIR CORRÊA CARVALHO e MARCELO CORRÊA — A ocorrência de nematóides em massa de tomate .....	37
LUÍS DE SALLES GOMES — Método fácil e rápido para coloração de treponemas .....	45
LUÍS DE SALLES GOMES — Anergia na leishmaniose cutâneo-mucosa americana, causada pela sífilis .....	49
MARIA ELISA W. DE ALMEIDA — Sobre a semelhança dos óleos de pataúá e de oliva — sua diferenciação .....	57
JAIR CORRÊA CARVALHO — <i>Ditylenchus destructor</i> em tubérculo-semente importado da Holanda .....	67
JAIR CORRÊA CARVALHO — <i>Mononchus</i> — um predador voraz.....	75
JAIR CORRÊA CARVALHO e JORDANO MANIERO — Algumas observações sobre a vida do nematóide do vinagre — <i>Turbatrix aceti</i> .....	83
MARCELO OSWALDO A. CORRÊA — Incidência da esquistossomose <i>mansoni</i> em imigrantes oriundos de outros Estados .....	91
J. B. FERRAZ DE MENEZES JUNIOR e JORDANO MANIERO — Sobre a estrutura microscópica do fruto do café .....	99
HOMERO PINTO VALLADA e HASSIB ASHCAR — Dosagem da penicilina no sangue e pesquisa no liquor de neurolúéticos tratados com penicilina procaínica ou cristalina .....	113
HOMERO PINTO VALLADA e HASSIB ASHCAR — Níveis de penicilina no liquor após a administração parenteral de altas doses de penicilina G cristalina .....	131
HOMERO PINTO VALLADA e HASSIB ASHCAR — Permanência de penicilina no liquor e sua passagem para o sangue após a administração por via lombar ou suboccipital .....	141
ERNESTO MILANESE — Determinação quantitativa de mistura de cinco analgésicos e antipiréticos.....	149
A. MELLO PERREIRA — Sobre um método rápido para determinação de cinzas totais em drogas .....	155
JANDIRA PLANET DO AMARAL, AUGUSTO DE E. TAUNAY, J. R. C. NOVAES, NELSON PLANET e MARIA BRASIL ESTEVES — Brucelose humana no Estado de São Paulo. Inquérito sorológico .....	169

# CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS E ALIMENTARES DOS TRABALHADORES DA ESTRADA DE FERRO CORUMBÁ-SANTA CRUZ.

## ESTUDOS E OBSERVAÇÕES

por

ARIOSTO BÜLLER SOUTO  
*Diretor do Instituto Adolfo Lutz*  
*Delegado do Brasil*

e

ALFREDO QUIROGA C.  
*Diretor do Departamento Nacional de Nutrición*  
*Delegado da Bolívia*

### 1.º — INTRODUÇÃO

O presente trabalho, não obstante sua estrutura e seu propósito descritivo e informativo, é, essencialmente, um estudo técnico especializado, exaustivo e amplo sobre as condições higiênico-sanitárias e alimentares dos trabalhadores da Estrada de Ferro Corumbá-Santa Cruz.

A Comissão Médica Mista Brasileiro-Boliviana (C.M.M.B.B.), ao terminar, em Dezembro de 1952, a tarefa que lhe foi confiada, dá por concluída a sua missão, reconhecendo de extraordinária importância a Estrada de Ferro Corumbá-Santa Cruz, inspiração nobilíssima de vínculo e de aproximação internacionais.

As observações e as críticas, aqui desenvolvidas, baseiam-se no mais amplo espírito de colaboração e representam desígnios sadios e construtivos.

### 2.º — ANTECEDENTES DOS ESTUDOS REALIZADOS PELA COMISSÃO MÉDICA MISTA

O Superintendente da Comissão Mista de E. F. Corumbá-Santa Cruz, dr. Pedro Xisto Pereira de Carvalho, sugeriu ao Sr. Secretário da Saúde Pública e da Assistência Social do Estado de São Paulo a possibilidade e a conveniência de ser designada uma comissão de cientistas brasileiros para estudar as condições higiênico-sanitárias e alimentares dos trabalhadores de E.F. Corumbá-Santa Cruz. Por sugestão aceita pelo Senhor Ministro das Relações Exteriores da Bolívia, ficou resolvido que os delegados brasileiros, seriam assessorados por médicos bolivianos, especialistas em doenças tropicais e em alimentação.

A 23 de novembro de 1951 estava constituída a comissão médica mista, por profissionais bolivianos e brasileiros.

Pelo Ministério de Higiene e Saúde da Bolívia foram nomeados delegados para integrar a Comissão : o dr. Alfredo Quiroga C., diretor do Departamento Nacional de Nutrição ; o dr. Raymundo Manriquez R., chefe do Laboratório do Departamento Nacional de Nutrição ; o Dr. Fermín Peralta K., pelo Distrito de Santa Cruz, na qualidade de chefe de Epidemiologia desse Distrito ; o dr. Jorge Doria Medina, pela Fundação Rockefeller, como chefe da Seção de Endemias Rurais dessa Fundação ; como delegados do Ministério da Defesa Nacional, os srs. drs. Angel Foianini, de Santa Cruz e Luis Botani, de Roboré.

Foi nomeado delegado do Brasil, na Comissão Médica Mista, o dr. Ariosto Büller Souto, diretor do Instituto "Adolfo Lutz", de São Paulo.

Finalmente, ainda se incluíram na Comissão Médica Mista, os srs. drs. Gilberto Parada Suárez, diretor do Departamento de Saúde de Santa Cruz, e Hugo Suárez Castedo, médico da Comissão Mista da Estrada de Ferro Corumbá-Santa Cruz.

### 3.º — PLANEJAMENTO DOS TRABALHOS

O plano de trabalhos da Comissão Médica Mista ficou assim estabelecido :

partida, por via aérea, de La Paz, em direção a Santa Cruz, para uma reunião da Comissão Médica Mista com os médicos locais e encontro com os demais delegados;

continuação da viagem, por via aérea até San José, localidade onde iniciarão estudos e observações;

viagem pela via férrea até Roboré, e visita a todos alojamentos ao longo da ferrovia;

mesa redonda em Roboré com os médicos locais, procedendo-se a estudos e observações *in loco*;

continuação da viagem pelo trecho Roboré-Corumbá com parada em El Carmen e visita ao Hospital local, sendo Corumbá o fim do itinerário. Após as discussões e conclusões finais retornou ao Brasil, o dr. Ariosto Büller Souto, regressando, os demais componentes, a seus respectivos destinos com passagem por San José, Roboré, Santa Cruz, e, afinal, La Paz.

### 4.º — OBSERVAÇÕES LOCAIS E ITINERÁRIO PERCORRIDO

Por circunstâncias ocasionais de último momento, não tomaram parte na Comissão o dr. Pedro Xisto Pereira de Carvalho e o dr. Fermín Peralta. O itinerário percorrido foi o planejado anteriormente.

O Ministério de Defesa Nacional da Bolívia colaborou eficazmente colocando um dos aviões da E.T.A. à disposição da Comissão, que, por isso, vem expressar seus agradecimentos pela valiosa colaboração prestada por aquêle Ministério.

A C.M.M., Comissão Médica Mista, durante a viagem empreendida, realizou as seguintes visitas :

1.º — *Zona de San José* — Hospital, restaurante, casas de empregados, de operários e instalações da E.F.C.S.C. em San José;

2.º — *Zona de El Porton* — Pôsto Sanitário; restaurante “La Republica”; mercearias; observação e estudo dos acampamentos da conserva da linha férrea; visita a uma granja e observação do estado sanitário dos trabalhadores;

3.º — *Zona de Roboré* — Hospital (exame dos enfermos); armazéns; vestuário; drogas e medicamentos; padaria; torrefação e moagem de café; acampamento de operários e de empregados; granjas para operários; obras em construção da Comissão Mista da E.F. Corumbá-Santa Cruz; e Hospital Militar da 5.ª Região Militar;

4.º — *Zona de El Carmen* — Restaurante para trabalhadores e outras instalações;

5.º — Instalações da pedreira de Ripio e da caieira da Comissão Mista;

6.º — *Cidade de Corumbá e zonas adjacentes a esta.* — Visita ao Hospital de Caridade (onde se atendem a todos os trabalhadores da Estrada de Ferro e, também, à população de tôda esta região); Centro de Saúde de Corumbá; Hospital Militar Naval; Oficinas Técnicas; operariado; e pátio da Comissão, em Ladário;

7.º — Altos fornos de fundição da Sociedade Siderúrgica Brasileira; Dispensário Médico; Laboratório Geológico e Metalúrgico; Oficinas Administrativas; Armazéns de Provisão de Alimentos, Vestuário, Drogas e Medicamentos da Comissão Mista da E.F.C.S.C.

8.º — Secretaria Geral, Centros de Reuniões e Assembléias do Sindicato de Trabalhadores da Comissão Mista da Ferrovia, em Corumbá.

O pessoal da C.M. da E.F.C.S.C., que colaborou na Comissão Médica Mista, foi o seguinte: eng. Francisco Gonçalves de Aguiar, chefe int. da C.M.F.B.B.; eng. Julio Antezana Vergara, delegado int. da Bolívia; sr. Hermán Cueller Velarde, superintendente; eng. Carlos Miguel Monaco, residente em Roboré; eng. Afonso Balderrama, residente em San José; eng. Rolando de Chazal, residente em El Porton; eng. Carlos Moreno, residente em El Carmen; eng. Josué Teodoro de Souza, chefe de seção; dr. Alfredo Parada Suárez, médico da C.M.F.B.B., em Roboré, dr. Enrique Jorge Vieira Nieto, médico da C.M.F.B.B., em Corumbá; dr. José Garcia da Costa, médico da C.M.F.B.B., em San José; e sr. Ramón Ballivian, chefe dos armazéns de Abastecimento.

##### 5.º — OBSERVAÇÕES E CONSIDERAÇÕES SÔBRE OS ASPECTOS MÉDICO, HIGIÊNICO E SANITÁRIO DOS TRABALHADORES DA ESTRADA DE FERRO CORUMBÁ-SANTA CRUZ.

a) *San José* — O Hospital é atendido por um só médico, dr. Garcia da Silva, brasileiro, seu diretor, auxiliado por freiras italianas, enfermeiros, práticos e pessoal administrativo. O edificio atende à pequena povoação e à massa dos trabalhadores da região; tem capacidade para 41 camas; a média diária é de 20 doentes de ambos os sexos, crianças e adultos, trabalhadores e seus familiares, e demais habitantes da região. Chamam a atenção o asseio e a ordem instituídos pelo diretor do Hospital. Apesar da reduzida lotação, êste Hospital dispõe de sala de ginecologia e de partos, e outra para

crianças ; sala de operações dotada de material e de equipamento indispensáveis às intervenções cirúrgicas. Além disso conta com uma pequena farmácia, provida de remédios e de medicamentos modernos para o tratamento dos doentes ; salas de direção, de administração, da secretaria, e despensa completam o nosocômio. Preparam as freiras as refeições dos doentes. Tanto medicamentos como alimentos, em sua maior parte, são de procedência, de fabricação e de produção brasileiras.

Devido à reduzida capacidade do estabelecimento, este Hospital não possui instalação de raios "X", de laboratório e de outros serviços auxiliares, capazes de fornecer maior eficiência para a assistência dos doentes. A hospitalização destes é satisfatória, sendo atendidos pelo médico diretor, cuja responsabilidade poderia ser repartida com outro médico auxiliar.

Consultadas as estatísticas sobre a incidência das doenças dominantes na região, pode-se estabelecer que a maior porcentagem corresponde ao impaludismo, em tôdas suas formas clínicas (sendo mais notável a forma endêmica, crônica e maligna, produzida por *Plasmodium precox*). Seguem-se as avitaminoses em tôdas formas clínicas, conseqüentes à subalimentação crônica e permanente. Registram-se, também, doentes com enfermidades gastrintestinais, tuberculosos e com edema de fome. Durante o período de janeiro a setembro de 1951, foram registrados 420 casos de avitaminoses diversas e 703 de enterite (enfermidades gastrintestinais).

A tuberculose, não obstante a subalimentação com a conseqüente redução das defesas orgânicas, e desequilíbrio no balanço dos elementos plásticos e reparadores da alimentação (proteínas, água, cloreto de sódio e outros minerais), tende mais para o lado negativo mercê do clima, do meio ambiente, em que pese o esforço físico, esgotante, produzido pelo trabalho dos operários. Os distúrbios gastrintestinais resultam, por vêzes, da natureza e da característica da alimentação, e também de parasitoses intestinais, entre estas, sendo mais freqüentemente observada a ancilostomose, causadora de anemias severas e graves. As crianças mais atingidas pelos distúrbios gastrintestinais, causas diretas do aumento da mortalidade infantil. As estatísticas registram, ainda, casos de raquitismo em crianças e muitas cáries dentárias. Observam-se casos de bócio endêmico.

É freqüente-a intercorrência de moléstias da árvore broncopulmonar, com fenômenos brônquicos de forma gripal, ligadas, possivelmente, à deficiência de vitamina A, sabido que tal carência determina a redução da defesa das mucosas brônquicas e pulmonares.

A porcentagem das moléstias venéreas é pequena. São, também, de ocorrência pouco freqüente as afecções cutâneas, específicas, de origem infecciosa ou conseqüente a doenças tropicais. Com referência à lepra, por exemplo, em suas diversas formas clínicas, escasseiam os casos observados na zona. Apesar disto conviria efetuar um levantamento, estabelecendo o exame sistemático do muco nasal, em laboratório a ser instalado no hospital, para preencher esta lacuna e ampliar, ainda, em forma preventiva o diagnóstico de outras entidades nosológicas bacterianas, parasitárias e micóticas.

No que se refere ao consumo de bebidas alcoólicas, pode-se dizer que todos operários ingerem-nas ocasionalmente, podendo-se considerá-los como



bebedores ocasionais daquelas bebidas, e daí, não serem observados estados de alcoolismo agudo ou crônico.

Os trabalhadores não mascam a coca.

Considerando os costumes e os hábitos higiênicos dos operários e, pela observação do meio ambiente, da forma e do caráter da moradia dos mesmos pode-se estabelecer que as condições em que vivem não são satisfatórias, havendo promiscuidade atentatória à moral familiar, aos preceitos da higiene pessoal e também familiar, beirando tudo isto com os instintos, apenas suspeitados, em indivíduos de raças primitivas e selvagens. Parece que o ambiente e a forma de vida influem nas reações anímicas, espirituais, morais e físicas dos operários, de modo que tais indivíduos, confundidos nesse meio, desolado, trágico e nada agradável, ficam resignados e conformados com essas condições, com a sua pobreza e com o seu destino.

Nessas condições, as causas ou fatores nosológicos encontram terreno fértil para as enfermidades, e, se a tudo isto se agregam o estado deficitário de nutrição e o dispêndio de energias gastas nas obrigações diárias, este último a agravar a subalimentação, é razoável que tais operários sejam, em muitos casos, vitimados por doenças que, dadas as características individuais, adquirem maior gravidade, diferente daquela que, comumente, possuem.

Estas considerações deverão ser bem ponderadas, pois, sem dúvida, corre, diretamente por conta do fator orgânico, a maior incidência das doenças que, como conseqüência lógica, diminuem o rendimento físico dos operários, donde menor possibilidade no cumprimento dos contratos trabalhistas. Outras conseqüências imprevisíveis, não prognosticáveis, são, no porvir, a invalidez parcial ou total, temporária ou definitiva, que virá constituir carga inútil para o Estado, para a sociedade e para a família.

b) *El Porton* — Nesta região encontramos duas enfermarias, cada uma com um enfermeiro; uma em Chochis e outra em Taperas. Trata-se de um setor provido de clima menos rigoroso; encontram-se alguns acampamentos de trabalhadores para a conservação da linha; e uma granja para produção de alimentos.

O estado de saúde dos trabalhadores desta zona é satisfatório, apesar das condições higiênicas serem quase idênticas às da região anteriormente descrita.

c) *Roboré* — Povoação importante, uma das maiores de toda a ferrovia. A população é composta de civis e militares; estes últimos pertencentes à 5.ª Região do Exército da Bolívia.

Nesta povoação a Comissão contou com a eficaz colaboração do médico da Comissão Mista da E.F.C.S.C., dr. Alfredo Parada Suárez, que informou sobre os característicos epidemiológicos da zona, doenças dominantes, estado higiênico-sanitário e alimentar dos trabalhadores da estrada de ferro. Aqui como em San José, porém em maior proporção, dados a importância e o número de habitantes, dominam o impaludismo, a tuberculose, o raquitismo, as cáries dentárias, etc. Entre as verminoses, prepondera a ancilostomose com seus clássicos quadros de anemia aguda e grave, sendo causa da grande porcentagem de mortalidade infantil. As enterites prevalecem entre doenças gastrintestinais. Seguem, em frequência, as de origem parasitárias, e finalmente, as infecciosas. São também muito fre-

qüentes as doenças venéreas. Das afecções cutâneas pode-se dizer o mesmo que se disse das observadas em San José. As doenças tropicais não são tão frequentes como se poderia supor, dadas as características da região. Quanto à lepra, muito poucos casos têm sido observados. As afecções agudas da árvore broncopulmonar acusam alta porcentagem de incidência, oriundas da deficiência da vitamina A, e conseqüente diminuição das defesas da mucosa do aparelho respiratório.

A dedetização, realizada com o auxílio da Divisão de Endemias Rurais da Fundação Rockefeller, permitiu fôsser erradicados os vectores e transmissores de algumas doenças. Segundo os povoadores da região, hoje, devido ao D.D.T., pode-se dormir tranquilamente, sem necessidade de mosquiteiro. Foi verificado, pela Comissão, ser escasso o número dos mosquitos.

As condições higiênico-sanitárias dos operários e dos ferroviários igualam-se às da zona de São José. Esta a razão por que, quando visitamos as moradias dos operários, êstes estavam descontentes e queixosos com a Comissão Mista, e podemos observar que alguns trabalhadores vivem em casas rústicas, de pouca segurança e protecção, a mulher e os filhos em promiscuidade com os animais. O asseio corporal e o vestuário deixam muito a desejar. A verdade porém é que cabe aos operários, grande parte dêsse "modus vivendi", não somente pela dissídia, pela indolência, como pela apatia e resignação. Querem receber tudo sem dar nada, nem despende o mínimo esforço. Não procuram para si ou para os seus, o menor conforto ou, por outra, não buscam condições de convívio racional característico da condição humana.

Observamos o indiferentismo e a falta de iniciativa da maioria dos operários, os quais, não obstante as queixas contra a alimentação fornecida por parte da Comissão Mista, nada faziam para cultivar e produzir alimentos que faltavam nos lotes de terra a êles pertencentes.

É lógico que, dadas essas premissas, as condições higiênico-sanitárias do trabalhador, além de precárias, sofrem a influência das doenças, da subalimentação, do clima e do dispêndio de energias físicas, necessários à natureza pesada e intensa do trabalho. Natural que o estado atual e o porvir dos obreiros sejam graves e delicados, dentro do aspecto biológico-social e no do rendimento efetivo do trabalho. Parece que, nesse encadeamento, há fatores concorrentes que contribuem para diminuir, inferiorizar e anular a condição humana do operário — física, psíquica e moral — reduzindo-lhe a capacidade produtiva em mais de 50%.

Na intimidade das suas consciências e de acôrdo com a índole, permanece, entre os operários, o ressentimento de se julgarem explorados pelos que, erroneamente, acreditam serem os seus exploradores. Esta é a impressão que recebeu a Comissão Médica Mista.

Sob o aspecto sanitário estranhou a Comissão Médica Mista, apesar de Roboré ser um povoado com uma concentração grande de operários e de funcionários, que a Comissão Mista da E.F.C.S.C. não dispusesse de hospital onde pudesse atender, como em San José, aos enfermos da região. Como tal surgem míseros galpões, rústicos e deteriorados, sem comodidade nem o mínimo conforto necessários aos enfermos de qualquer hospital. É realmente inexplicável como o médico que atende êsse nosocômio e tôda zona, pode desempenhar seus trabalhos profissionais em circunstâncias de ambi-

ente tão deprimente e tão defeituoso. Não resta dúvida que êsse médico, posta à parte tôda a abnegação, dentro de sua desinteressada consciência profissional, superou dificuldades e deficiências, fazendo-se credor, por isso, dos mais justos aplausos pelos sacrifícios e pelo exemplar cumprimento dos deveres da profissão.

A opinião formada pela observação dêste estado de coisas, inexplicável e surpreendente, salienta a necessidade iniludível de ser construído um hospital com capacidade para satisfazer as exigências sanitárias locais. Êsse hospital deverá ser equipado de acôrdo com as modernas prescrições da organização sanitária e da engenharia especializada.

O projeto de construção deverá ser concebido de modo a dispor o hospital, de grande serviço médico central, de acôrdo com a importância da região, para atender, cômoda e eficientemente, ao movimento de doentes através de tôdas seções e divisões encontradas hoje nos nosocômios modernos: sala de clínica para homens e para mulheres, serviço de cirurgia para ambos os sexos, salas de operações dotadas com o instrumental necessário; maternidade com salas para partos e ginecologia; traumatologia; oftalmologia; oto-rinolaringologia; isolamento para doenças infeto-contagiosas; sala para doenças venéreas; grande laboratório clínico; raios X; serviço de alimentação e de nutrição para enfermos, com salas de refeições para doentes e pessoal do estabelecimento, e cozinha dietética; salas para consultas; farmácia; administração; secretaria; contadoria; depósito de víveres; banhos para a higiene pessoal.

Um edifício dessa natureza, com as instalações sugeridas, preencheria, hoje como amanhã, as deficiências verificadas e seria uma contribuição das mais benéficas e das mais práticas da Comissão Mista da E.F.C.S.C. Atenderia, dentro das melhores e das mais modernas condições técnicas, ao aspecto sanitário desta região que será, no futuro, uma das povoações mais importantes da zona da E.F. Corumbá-Santa Cruz.

d) *El Carmen* — É o ponto mais quente da ferrovia, possivelmente devido à topografia e proximidade de Corumbá. Dispõe de hospital de capacidade igual ao de San José. Construção nova, pequena, porém confortável e que conta com serviços necessários, de acôrdo com o movimento de doentes atendidos. Entre o pessoal técnico e administrativo se encontram: um enfermeiro, 2 auxiliares, dirigidos por um médico residente em Corumbá e que atende o nosocômio durante um ou dois dias por semana.

Êste sistema de prestação de serviços profissionais não é o que convém nem se deve aceitar, pois em hospitais, clínicas ou sanatórios o cuidado com os enfermos deve ser permanente, imediato, direto e sempre oportuno, sobretudo em casos urgentes e graves.

Deixar isso ao critério de um prático ou de um enfermeiro representa grave responsabilidade, não apenas para a Comissão Mista da Estrada de Ferro Corumbá-Santa Cruz como para o médico encarregado do Hospital. Os casos desesperados, de possíveis conseqüências fatais, deveriam ser solucionados por contrato de prestação de serviços, garantindo-se uma assistência médica, pessoal e diária, eficiente e imediata.

Conforme os dados apresentados à Comissão Médica Mista pelo prático encarregado, é o seguinte o movimento registrado:

Doentes atendidos no mês de outubro de 1951 — 799 casos (dêstes 33 correspondem a doenças de desnutrição e de subalimentação).

Doentes atendidos no mês de novembro de 1951...	819 casos
Doenças carenciais .....	270 casos
Gripe e doenças broncopulmonares .....	240 casos
Doenças da pele .....	108 casos
Impaludismo e complicações.....	86 casos
Traumatismos acidentados.....	28 casos
Doenças gastrintestinais.....	13 casos
Verminoses e parasitoses intestinais .....	sem indicação

Do exposto conclui-se que há maior incidência de doenças carenciais e broncopulmonares, o que evidencia ser a patologia dominante, tanto nesta região como nas anteriormente observadas, conseqüência da alimentação deficiente, incorreta e anormal, determinada pelo subconsumo de alimentos e pela subalimentação conseqüente.

As análises quantitativas e qualitativa que se farão em capítulo especial, fornecerão elementos necessários e preciosos para justificar a realidade do estado precário de nutrição dos trabalhadores, devido à fome crônica e à subalimentação em que se debate a maioria dos operários e respectivas famílias.

Com referência às condições higiênico-sanitárias, tanto pessoal como relativas à moradia e ao vestuário, cabem as mesmas palavras e argumentos expendidos ao serem estudadas as zonas já referidas.

e) *Corumbá e Ladário* — Cidades brasileiras onde terminaram os estudos da C.M.M. Foram visitados, na primeira, o hospital de Caridade, que atende aos ferroviários; Centro de Saúde de Corumbá; os escritórios administrativos e a drogaria da C.M.; em Ladário, o Hospital Naval, os serviços técnicos e as oficinas da C.M.E.F.C.S.C.

Mercê das condições dessas duas cidades no que respeita a facilidades, auxílio rápido, provisão e abastecimento de drogas, de medicamentos, de alimentos e serviço médico permanente, os doentes são atendidos eficientemente. Corumbá é o ponto onde se centralizam todos serviços hierárquicos e de importância da C.M. Tudo isso dispensa referências ao estado sanitário e higiênico dos trabalhadores, uma vez que no ponto inicial da ferrovia não há, propriamente, operários, e sim funcionários administrativos e técnicos nas oficinas e dependências internas da Comissão Mista da E.F. C.S.C.

Chamou muito a atenção da Comissão Médica a falta de uma direção superior de controle dos serviços médicos de tão grande número de operários e funcionários da E.F. Corumbá-Santa Cruz numa extensão de mais de 650 quilômetros. Essa direção geral médica, situada ao longo da ferrovia em um ponto equidistante, poderia exercer supervisão geral dos trabalhos médicos com inspeções periódicas, dispondo de material, drogas e alimentos para pronto aprovisionamento dos hospitais e postos sanitários. Poderia ainda estender o seu âmbito de ação não só à medicina curativa, como, sobretudo, à medicina preventiva, realizando trabalhos da maior repercussão internacional no terreno das investigações e pesquisas relacionadas com as condições locais dessa vasta zona, quase totalmente virgens nesse sentido.

## 6.º — CONSIDERAÇÕES SÔBRE A ALIMENTAÇÃO DOS TRABALHADORES.

De acôrdo com o critério da Comissão Médica Mista, êsse aspecto é tão sério e tão grave, como o anteriormente considerado, e a sua importância decorre da análise dos dados estatísticos referentes ao estado sanitário dos trabalhadores, dados êsses que acusam grande incidência de doenças e afecções, resultantes da subalimentação e da carência em vitaminas.

Ainda que, durante nossa visita, a observação e o exame dos doentes e dos trabalhadores não demonstrassem, com todo o rigor, o revelado pelas estatísticas, bastam porém para comprovar nossas afirmações, as análises quantitativas, qualitativas, da classe, e da variedade dos alimentos que os operários consomem em todo o percurso da E.F. Corumbá-Santa Cruz.

A fim de evitar a repetição de fatos observados pela Comissão Médica Mista e para evitar redundâncias desnecessárias, devido a ser esta assistência idêntica, semelhante e parecida em tôdas zonas, regiões e povoações, cremos que será suficiente resumir, em seus detalhes, o sistema da alimentação, analisando-se as características que a definem e a individualizam. Tudo sem perder de vista o conceito utilitário, estabelecida a relação de qualidade e custo dos víveres, o cálculo econômico na regra destinada ao regime das compras de alimentos e ao cumprimento das necessidades alimentares do operário e dos seus familiares.

Feitas estas considerações, analisemos, primeiramente, a assistência alimentar dos hospitais e postos sanitários existentes na região da E.F. Corumbá-Santa Cruz, determinando-se a classe, a natureza, a qualidade e a variedade dos alimentos fornecidos aos doentes; os cardápios, as formas de preparação e de distribuição; e demais detalhes que, também, fazem parte dêsse assunto.

Fica patente que os alimentos e o serviço de alimentação usados nos hospitais são melhores e superam os dos restaurantes da Comissão Mista da E.F.C.S.C. Todos hospitais possuem despensa mais ou menos bem provida de alimentos, com os quais se preparam refeições e regimes variados devendo-se notar que, quanto à origem e procedência, os produtos alimentícios são quase todos brasileiros.

No quadro abaixo as substâncias destinadas a cada doente do Hospital de San José.

Q U A D R O 1

ALIMENTOS	Pêso em g	Calorias
Leite fresco .....	300	180
Carne fresca .....	150	301,5
Arroz descascado .....	30	103,9
Mandioca .....	50	43,8
Abóbora (eventual) .....	30	6,6
Ervilhas .....	100-150	501
Verduras .....	100-150	6
Tomate .....	80	16
Trigo .....	50	52
Farinha de trigo .....	20	170,8

(Continuação)

ALIMENTOS	Pêso em g	Calorias
Açúcar .....	30	120
Doce em conserva <sup>(1)</sup> .....	80	228,8
Aveia .....	50	187
Gorduras .....	30	270
Banana .....	uma	183
Laranja .....	uma	48
Mamão (eventual) .....	um	40
Toddy .....	porção	160
Pão .....	200	358
Café ou mate <sup>(2)</sup> .....		3.176,3
Água de bebida <sup>(3)</sup> .....		

(1) — Sòmente em casos especiais.

(2) — Serviço quatro vèzes ao dia.

(3) — Não analisada, porém com caracteres de potabilidade.

Como combustível emprega-se o querosene, 100 litros por mês, ou 14-15 m<sup>2</sup> de lenha.

A provisão de víveres é feita por intermédio de requisições ao armazém da C.M.E.F.C.S.C. O preparo dos alimentos e os regimes estão sob cuidados de uma freira que superintende o trabalho e o pessoal da cozinha.

Considerando o resultado calórico da alimentação desse hospital; o indivíduo em repouso, sem trabalhar e sem esforço físico, isto é, nas condições de doente, as 3.176,30 calorias representam regime acima de suficiente, sumamente generoso, pois, e, talvez, adequado à pronta recuperação e restabelecimento de enfermos, pôsto que não se cumpram, pròpriamente, o que exige a dietoterapia aplicada a cada caso, em particular.

É a seguinte a tabela diária do racionamento, por indivíduo, no Hospital de Roboré.

Q U A D R O 2

ALIMENTOS	Pêso em g	Calorias
Arroz .....	200	692
Açúcar .....	100	400
Batatinha (eventual) .....	150	127,72
Manteiga .....	50	450
Carne fresca .....	375	753,75
Cebola .....	18	8,10
Feijão .....	120	400,80
Farinha de mandioca .....	31	107,88
Macarrão .....	62	692
Margarina (eventual) .....	9	81

(Continuação)

ALIMENTOS	Pêso em g	Calorias
Pão .....	100	269
Leite .....	250	150
Sal .....	25	
Mate .....	3	
Café .....	21	
Pimentão vermelho .....	2	
		4.132,25

O regime aí especificado é bastante generoso, com valor calórico além de suficiente, qualidade aceitável, harmônico e apropriado. Não tem incorreções.

Em matéria alimentar as afirmações referentes aos hospitais de San José e de Roboré também se podem aplicar ao nosocômio de El Carmen.

#### ASSISTÊNCIA ALIMENTAR. QUALIDADE E QUANTIDADE DAS RAÇÕES. COMENTÁRIOS.

Nas zonas mais importantes da estrada de ferro, instalou a C.M. restaurantes, em edifícios construídos especialmente para o fornecimento de alimentação aos trabalhadores. Ambiente adequado ao fim a que se destina, êsses estabelecimentos dispõem de higiene, de ordem e de bom serviço. Todavia a organização não corresponde à orientação técnica exigida em assistência alimentar a coletividades; ao contrário satisfaz, apenas, as necessidades daqueles para os quais foram criados, daí serem os erros, provenientes dessas circunstâncias, mais visíveis à apreciação científica. Êsses erros serão analisados posteriormente, porém desde já estabeleceremos:

1.º — Em todos os restaurantes das zonas e regiões da ferrovia, existem 3 formas de consumo da alimentação por parte dos operários. Uma, idêntica ao serviço realizado pelo "SAPS" do Rio de Janeiro, por meio do qual cada um se serve das rações do dia, em bandeja apropriada.

Dessa maneira tem-se a impressão de asseio, de ordem, no modo de distribuição das refeições.

2.º — Para o operário e respectiva família servem-se refeições individuais ou correspondentes a 2 ou 3 pessoas. Sob o ponto de vista econômico esta forma é conveniente para o trabalhador, mas não lhe beneficia a saúde e a de seus familiares, porque o operário, quase sempre, pai de família, contrata duas ou três refeições, porém delas se servem 5 ou 6 pessoas o que determina um consumo alimentar inferior ao que corresponde a cada indivíduo.

3.º — Ainda há o racionamento com caráter individual, utilizado pelos operários que têm família, pois esta prefere preparar as próprias refeições.

Como êsses três sistemas não se baseiam em preceitos técnicos, logicamente surgem os erros e as deficiências a simples observação.

Se se comparam produtos alimentícios e alimentos racionados com as quatro leis fundamentais de alimentação, verifica-se que o regime alimentar

do operário peca contra tais leis. De fato, com relação à quantidade servida, pareceria bastar a mesma para cobrir necessidades calóricas individuais, visto que a refeição preparada e os 4 pratos apresentados nas bandejas seriam o suficiente. No entanto trata-se de verdadeira miragem pois a metade dessa refeição fica na bandeja e não é utilizada pelo operário. A ingestão dos alimentos está em relação direta com o princípio da variedade; quando esta não existe, vem a monotonia do regime, causa da não utilização das refeições pelo cansaço do indivíduo, diante da repetição dos mesmos alimentos pela manhã, e pela tarde, e no dia seguinte, e assim sucessivamente. Isto é o que se observa e o que ocorre nos restaurantes da Comissão Mista. Assim as refeições que, na aparência, satisfariam o operário, são deficientes em quantidade, porque delas sobram 50%. Este fato determina a pouca aceitação do regime, e, o que é mais grave, o encarecimento alimentar.

Com relação à segunda lei, ou, seja, a lei da qualidade, não se pode afirmar que a alimentação dos trabalhadores a obedeça. No racionamento individual não há certas qualidades de alimentos, ausentes nas refeições preparadas e servidas em regiões e zonas da ferrovia. Essas falhas prejudicam a eficiência do trabalho, a integridade física e orgânica do operário, pois, este não consome proteínas de alto valor biológico, de função reparadora e construtiva; nem consome também, quantidades necessárias de outros elementos reparadores, tissulares, como o cálcio, o fósforo, o ferro e o sódio.

Nos regimes e nos cardápios, assim como nas tabelas de racionamento individual, não há leite, verduras, frutas, etc., de modo que a alimentação é, qualitativamente, incompleta.

Pela terceira lei estabelecem-se proporções de hidratos de carbono (50%), de proteínas (15%), e de gorduras (35%), que devem existir na alimentação normal e correta. No regime dos restaurantes da Comissão Mista predominam hidratos de carbono à custa de proteínas e de gorduras. No racionamento individual não há determinação de teor alimentar por pessoa e por dia, e, é o caso, por exemplo, da fixação de 300 g e mais de carne para um só indivíduo, sabendo-se que a quantidade normal diária, e por pessoa, deverá ser, no máximo, de 150 g.

A quarta lei correlaciona o alimento a finalidades, propósitos e funções que se desejam e devem ser obtidos com a alimentação. É o caso concreto dos operários da Comissão Mista para os quais os alimentos deverão fornecer maior rendimento e produtividade de trabalho, sem o que redundaria em menoscabo à integridade física e à saúde de cada um. Para esse fim a Sociedade das Nações estabeleceu e classificou a natureza e a categoria de trabalho, designando, para cada gênero deste, determinado número de calorias, por hora e para a manutenção das necessidades energéticas em função da lei do esforço físico, a única em toda alimentação racional que não deve ser desprezada, pois as transgressões da mesma acarretam transtornos e consequências graves para o organismo humano em qualquer período da existência, em qualquer atividade, índole do trabalho e circunstâncias.

Nas observações feitas no tocante à nutrição dos trabalhadores da Comissão Mista da E.F. Corumbá-Santa Cruz, não são obedecidas as quatro leis fundamentais referidas, pois a alimentação fornecida é hipocalórica, incompleta, desarmoniosa e inadequada.



## QUALIDADE E QUANTIDADE DAS RAÇÕES

*Restaurante de San José* : Eis o cardápio servido aos operários da povoação : sopa de macarrão ; arroz ; carne ; feijão ; pão, 400 g ; verduras e frutas (eventuais). Estabeleceram-se, quantitativamente e por indivíduo, as proporções da maneira seguinte :

Macarrão .....	60 g
Arroz .....	140 g
Carne .....	200 g
Feijão .....	120 g
Pão .....	400 g
Azeite .....	30 g
Açúcar .....	40 g
Café em pó, q. s.	
Mate	

Os alimentos acima produzem 2.873 calorias. Nessas condições classifica-se o regime de hipocalórico, insuficiente, incompleto, desarmônico e inadequado.

*Restaurante de El Porton* — Neste estabelecimento distribuem-se por quatro pratos no almoço e quatro pratos no jantar : sopa, feijão, arroz, macarrão, carne, mate. A primeira refeição, pela manhã, consta de infusão de mate com 2 pães de 40 g cada um. Quantitativamente as substâncias alimentares acima se representam, em gramas :

Carne .....	300
Arroz .....	140
Milho .....	100
Feijão .....	100
Pão .....	80
Macarrão .....	80
Chivé .....	50
Açúcar .....	40
Gordura de porco .....	15
Gordura vegetal .....	15

Alguns dos alimentos desta lista como chivé, açúcar, milho e gorduras entram no preparo e complementação do cardápio. Na fórmula sintética o regime analisado representa 2.169 calorias.

*Restaurante de El Carmen* — Aqui também se encontram as mesmas características observadas nas zonas percorridas. Não varia a composição alimentar. A Comissão Mista da E.F.C.S.C. mantém o mesmo sistema de abastecimento em toda extensão da ferrovia. Estes os alimentos de consumo quotidiano : arroz, feijão, carne, macarrão, farinha, mate, azeite vegetal, manteiga vegetal e pão. Figuram, às vezes, no cardápio : batata e mandioca. Para as refeições, servidas no restaurante, tomam-se os seguintes pesos, em gramas :

Carne .....	200
Arroz .....	140
Pão .....	400
Feijão .....	120

Macarrão .....	60
Açúcar .....	40
Farinha .....	50
Azeite .....	30

Dêsses alimentos conseguem-se 2.706 calorias.

*Restaurante de Roboré* — Propositadamente reservamos para final dêste capítulo o estudo da alimentação fornecida pelo estabelecimento onde encontramos dados importantes e concretos, indicadores da alimentação que o trabalhador consome. Acentuamos ser isto de muito interêsse porque Roboré, povoação mais importante da ferrovia, conta com população numerosa, constituída de trabalhadores e respectivas famílias, e de outros habitantes. Futuramente será ponto principal e de maior atividade em tôda a região.

Compõem o almôço ou o jantar os seguintes pratos: sopa de aveia: arroz; feijão; carne com macarrão e aletria; mate, e pão. Servem-se, pela manhã, café com pão. Êste, fabricado no local, pesa 100 e 500 g, vendido a Bs. 1,50 e 7,50, respectivamente. Nos domingos há sobremesa, e, nesses dias, apenas, desjejum e almôço.

Detalhadamente, em gramas, distribuem-se os elementos acima:

Carne com osso .....	340
Arroz .....	225
Batata .....	200
Pão .....	100
Macarrão .....	50
Manteiga .....	50
Açúcar .....	30
Café em pó .....	15
Feijão .....	48
Sal .....	15
Extrato de tomate .....	6
Pimenta .....	0,5

Eventualmente verduras, saladas, camarões, doces. A valorização quantitativa e qualitativa dos alimentos de racionamento individual, acima descritos, fornece 2.346 calorias.

#### APROVISIONAMENTO DE VÍVERES E ASPECTO ECONÔMICO DA ALIMENTAÇÃO

Os gêneros de primeira necessidade são adquiridos por meio de requisições assinadas pelos engenheiros, e os valores respectivos se deduzem, mensalmente, dos salários. Com tal sistema reduz-se o sôlido de alguns trabalhadores à expressão mínima, do total de Cr\$ 600,00, o mínimo que a C.M. paga. Obtida a ordem dos superiores os operários suprem-se, nos armazéns, de mercadorias necessárias ao consumo próprio e da família. Aos residentes em acarpamentos concedem-se 5 horas, pagas, para compras e transporte, êste gratuito, em veículos da Comissão Mista. A carne fresca é fornecida por três vêzes na semana, a preços estabelecidos pela Comissão. Vende-se o pão, fabricado nos pesos de 40, 100 e 500 g, aos preços anteriormente descritos. O café é vendido já torrado e moído pela Comissão. O custo das mer-

cadorias para trabalhadores e empregados da Comissão, tem cotação em moeda brasileira, ao câmbio de Bs 2,30 por cruzeiro. Para particulares e moradores das povoações alheias à Comissão Mista, o valor da unidade brasileira corresponde a Bs 3,65, sejam 59,4% a mais. Os artigos de primeira necessidade são, na totalidade, de procedência brasileira e custam mais. Os preços poderiam ser talvez mais razoáveis e convenientes ao consumidor se a aquisição daqueles artigos se fizesse nos mercados interiores da Bolívia, mesmo tendo-se em conta o acréscimo dos transportes por via aérea, a mais usada na região.

Nos restaurantes, uma diária custa Cr\$ 7,00 e compreende: café, pela manhã, Cr\$ 1,00 e, cada uma das outras refeições, Cr\$ 3,00. O desjejum serve-se de 5 a 7 horas; almoço, entre 10,30 e 12 horas, e jantar de 16,03 a 18,00 horas.

Em El Porton, estabeleceram os trabalhadores um sistema denominado "La Republica", administrado, rotativamente, pelos próprios operários que se cotizam, mensalmente, de acôrdo com os gastos efetuados, e que, ainda adquirem, com facilidade, vegetais produzidos em pequenas granjas. A alimentação deste restaurante é, assim, um pouco mais variada.

No restaurante de El Carmen, o deficit da Comissão Mista da Estrada de Ferro Corumbá-Santa Cruz é de Cr\$ 3,50, por dia e por pessoa. Os detalhes orçamentários fornecidos pela C.M. da E.F.C.S.C. foram os seguintes, em cruzeiros:

		Cr\$
Novembro de 1951 .....	Gastos.....	84.533,50
	Perdas.....	36.324,20
Outubro de 1951 .....	Gastos.....	86.002,00
	Perdas.....	35.594,20
Setembro de 1951 .....	Gastos.....	78.537,90
	Perdas.....	32.757,10

COMENTÁRIO — Não teriam valor e nem significação os dados anteriormente fornecidos sobre a assistência alimentar oferecida aos trabalhadores, assim como a avaliação qualitativa e quantitativa dos valores da alimentação, se não fossem referidos e comparados com as bases estabelecidas para a alimentação normal, racional e correta que corresponde ao operário, "tipo mediano", de acôrdo com as suas necessidades e exigências, conforme se verifica no quadro 3.

A fim de completar os dados do quadro anterior e salientar a diferença entre os valores normais de uma dieta correta, isto é, daquela que se aconselharia aos trabalhadores, de acôrdo com as suas exigências energéticas e plásticas e a dieta atual, consignamos, a seguir, a média dos valores encontrados e os valores normais, estes últimos com referência às necessidades de um indivíduo do "tipo mediano" que desempenha as funções de operário e trabalha de conformidade com as condições climáticas locais.

## QUADRO 3

Comparação do regime da C.M.F.C.B.B. com valores normais da alimentação racional.

COMPONENTES	VALORES ENCONTRADOS				Valores normais para indivíduo médio
	San José	El Porton	El Carmen	Roboré	
<i>Valor calórico total (V.C.T.)</i> .....	2.873	2.169	2.706	2.346	4.000
<i>Princípios alimentícios (g)</i>					
1. Hidratos de C .....	493,6	338	462	358	500
2. Proteínas .....	122	115	126	84	110
3. Gorduras .....	50,2	39,7	52	64	115
<i>Minerais (mg)</i>					
1. Ca .....	187	157	260	95,4	1.059
2. Ph .....	1.370	1.397	1.361	920	2.428
3. Fe .....	16,14	18,86	18,54	11,05	23,58
4. Na Cl .....	3.246	825	3.238	1.139	4.205
<i>Vitaminas (mg)</i>					
1. A (u. i.) .....	176	628	176	784	8.895
2. B <sup>1</sup> .....	0,774	8,881	0,734	0,708	1,785
3. B <sup>2</sup> .....	0,938	0,894	0,717	0,646	2,422
4. Niacina .....	18,6	15,49	13,6	11,49	21,68
5. C .....	0	11,7	0	22	208
6. D (u. i.) .....	0	0	0	0	1.000
<i>Cocientes e porcentagens</i>					
1. Caloria-grama .....	0,75	0,50	0,90	1	
2. Ca/Ph .....	0,13	0,11	0,18	0,10	0,48
3. K/Ca .....	7	—	6	14	
4. K/Na .....	1,1	—	1,1	26	
5. Cetoantictogênico .....	0,09	0,96	0,10	0,15	0,20
6. Proteínas animais .....	32%	51%	46%	54%	55%
7. Fe animal .....	30%	36%	31%	5,51%	40%
<i>Reação</i> (1) .....	Pr. ac.	Pr. ac.	Pr. ac.	Pr. ac.	

(\*) Predomínio ácido.

Q U A D R O 4

Valores encontrados e valores normais de rações

COMPONENTES	Rações dos operários da E.F.C.S.C. (*)	Ração correta
<i>Fórmula sintética</i>		
1. Hidratos de C. ....	61,5%...360 g...1.450 cal	60%...500 g...2.400 cal
2. Proteínas .....	14,4%... 85 g... 338 cal	14%...140 g... 560 cal
3. Gorduras .....	25,1%... 64 g... 578 cal	26%...115 g...1.040 cal
	Cal — 2.500 (média)	4.000 cal
<i>Princípios alimentícios</i>		
1. Hidratos de C .....	360 g	500 g
2. Proteínas .....	85 g	140 g
3. Gorduras .....	64 g	115 g
<i>Minerais</i>		
1. Ca .....	0,095 g	1 g
2. Ph .....	0,90 g	2,5 g
3. Fe .....	0,011 g	0,023 g
4. Na .....	0,2950g	0,4205 g
<i>Vitaminas</i>		
1. A .....	784 u. i.	10.000 u. i.
2. B <sup>1</sup> .....	0,708 mg	0,0035 g
3. B <sup>2</sup> .....	0,646 mg	0,0035 g
4. Niacina .....	0,011 g	0,025 g
5. C .....	0,022 g	0,200 g
6. D .....	0	900 u. i.
<i>Cocientes e porcentagens</i>		
1. Ca/Ph .....	0,10	0,40-0,60
2. Cetoanticetogênico ...	0,15	0,20-0,25
3. Caloria-grama .....	0,80	0,80
4. Alimentos protetores ..	19%	70%
5. Proteínas animais .....	54%	55%
6. Fe animal .....	35%	60%

(\*) Do regime atual, fornecido ao trabalhador pela C. M. B. B., encontrou-se a média V. C. T. igual a 2.500.

Para avaliação das exigências normais dos trabalhadores da E.F.C. S.C. tomemos, como base, o homem de tipo médio, com 25 anos de idade; 60 kg, e com 1,58 m de altura. S. corporal de 1,55 m<sup>2</sup>, peso teórico igual a 59 kg e V.C.B. de 1.526 (teórico). Assim :

$$\frac{1.526 \text{ cal}}{24 \text{ h} \times 1,55 \text{ m}^2} = \frac{1.526}{37,30} = 41,03 \text{ cal p/h e m}^2 \text{ (teórico)}$$

Correções :

Por temperatura : 15% menos, ou sejam 15% de 41,03 = 6,15

Total : 41,03 — 6,15 = 34,88 cal p/h e m<sup>2</sup> (*M.B. real*). Para chegar a V.C.B. real, teremos :

$$43,88 \times 24 \times 1,55 = 1.297,53 \text{ cal (V.C.B. real)}$$

Logo :

V.C.B. real .....	1.297,53 cal
Trabalho intenso, 7 h x 250 .....	1.760,00 „
Indeterminado (30% do V.C.B. real) .....	389,00 „
	<u>3.436,53 „</u>
Resultado anterior .....	3.436,53 „
Por A.D.E. (8%) .....	274,88 „
	<u>3.711,41 „</u>
Por não absorção (10%) .....	371,14 „
	<u>4.082,55</u>

Portanto 4.082,55 cal representam o V.C.B., por dia e por operário. Contudo, para facilidade de cálculo, usamos 4.000 cal.

Os valores estabelecidos no quadro 3 correspondem aos da fórmula sintética já estabelecida e à fórmula desenvolvida. Por esta se poderá avaliar da escolha que se fez dos alimentos, quantidade respectiva, etc., como elementos componentes do regime aconselhado, e cujas características correspondem a um regime normal e racional.

A observação da diferença entre valores da ração oferecida ao obreiro e os da ração aconselhada revela, por si só, a realidade e o estado atual das falhas relativas à assistência alimentar aos trabalhadores da E.F.C.S.C. (quadro 4).

Na alimentação aconselhada, tanto para o indivíduo, unidade biológica, como para as coletividades, a indicação dos sistemas alimentares deve responder a um tripé de ação doutrinal que é : técnica, social e econômica ; considerando-se que, tanto o aspecto social como o econômico, só podem responder, à finalidade e aos propósitos em vista, quando correspondem aos conceitos estabelecidos pela especialização. O serviço alimentar com que a C.M.E.F.C.S.C. serve as exigências nutritivas de seus obreiros, peca pela falta de técnica, predominando a sistematização de preceitos exclusivamente administrativo-econômicos. Isto justifica muitas das deficiências, isto é, os erros que, sob o ponto de vista do rigor científico, foram encontrados e evidenciados.

Começam as falhas desde a escolha das substâncias alimentícias. Devido a essa deficiência a comida servida nos restaurantes da Comissão Mista apresenta monotonia do regime, que é a causa da subalimentação. Não existindo a variedade e a diversidade dos alimentos e das preparações resultantes, o consumo por parte dos beneficiários se reduz, muitas vezes, até a 50% da comida servida. Já nos referimos a isso, chamando também a atenção para o fato das aquisições serem tôdas feitas no mercado brasileiro, portanto, sem a participação de alimentos nacionais que o operário boliviano se acostumou a consumir em quase tôda vida.

Também influi, poderosamente, como fator psicológico, a distribuição, nos restaurantes, das refeições em pratos ou bandejas muito cheios. Essa visão de abundância reduz o apetite, e pode-se considerar como outro dos fatores de subalimentação e de subconsumo que, pela repetição, determina, no indivíduo, conseqüências sérias, sem ser precisamente, as do estado de desnutrição. A desnutrição e a subalimentação são estados completamente diversos, quanto às conseqüências e à gravidade. A desnutrição é o estado final a que chega o indivíduo depois da privação completa e prolongada de alimentos; assim o organismo recorrendo, inicialmente, às suas reservas, ao terminarem estas, se desmorona celular, orgânica e moralmente, com lesões irreparáveis e conseqüência final a breve prazo; a morte do indivíduo. A subalimentação, pela insuficiência da qualidade e da quantidade dos alimentos, é muito mais grave, significa o apoucamento dos caracteres físicos, psíquicos e morais do indivíduo; o subalimentado nem sequer vive ao dia, pois devido à sua exígua alimentação, esta deverá ser completada pelas suas reservas naturais para combater a fome.

Quando a subalimentação é permanente a fome também é permanente, nestas condições o indivíduo pode conceber seres em estado de degeneração. Esta a gravidade fundamental da subalimentação: degeneração e retrogradação dos caracteres psico-físicos, que vão de geração em geração, sendo suscetível de fazer, pelo que se demonstrou experimentalmente, que o ser humano desapareça na quarta ou quinta gerações.

Dentro desses conceitos é que, atualmente, se estabeleceu a sistematização dos serviços alimentares sob um tríptico ponto de vista técnico, social e econômico. Esta sistematização se apoia na preceituação de princípios aplicados ao cumprimento das prerrogativas dos direitos sociais, tudo subordinado às exigências e possibilidades do fator econômico; orientado, por outra parte, em sua forma e via de execução, respeitados os interesses e benefícios de aplicação prática favoráveis aos trabalhos assim como à empresa que os emprega.

É de se salientar ainda, a possibilidade da produção do alimento *in situ* possibilitando variedade, maior qualidade, métodos de armazenagem, de conservação e de proteção dos alimentos, com o fim de evitar perdas. Assegura-se, assim, para estes, melhor estado sanitário impedindo que motivem, causem ou veiculem enfermidades. Dêsse modo garante-se melhor preparo, maior rendimento de qualidade e de propriedades nutritivas, aceitação e aproveitamento, isto é, maior consumo das refeições servidas, e, portanto, obtenção de melhores benefícios, só conseguidos com alimentação correta, racional e normal, calculada e própria às necessidades imposta para rendimento ótimo do esforço físico, acautelador da saúde do indivíduos

À enumeração de todos êsses princípios evidencia que está muito longe da realidade o conceito da Comissão Médica Mista no que se refere ao serviço de alimentação e à ração oferecida ao trabalhador.

Em conclusão, trata-se, de conformidade com análise e avaliação quantitativas e qualitativas, de regime alimentar hipocalórico, pois que 2.500 cal não satisfazem às exigências do trabalhador da E.F.C.S.C., desde que, para o mesmo, são necessárias, diariamente, 4.000 cal.

Com a fórmula sintética, as quantidades absolutas dos princípios nutritivos mostram-se, também, inferiores às aconselhadas no regime normal, e o que mais chama a atenção é a desarmonia da fórmula no referente à redução das gorduras.

Maior deficiência e maior desequilíbrio da fórmula se verificam nos minerais e nas vitaminas. Com efeito, a ração do trabalhador é hipocalórica e a cifra do fósforo, também é baixa. A relação cálcio-fósforo, igual a 0,01, significa cociente reduzido, responsável pelo estado de descalcificação e de todos os casos de raquitismo observados entre os operários.

Onde maiores deficiências se notam no regime do trabalhador é no conteúdo vitamínico, pois a cota de cada uma das vitaminas não basta para cobrir, nem sequer medianamente, as exigências normais do indivíduo, e isto se vê, preferencialmente, com relação às vitaminas A e D. A maior demonstração dessas diferenças se pode estabelecer comparando os valores destas vitaminas, encontrados no regime atual, com o regime aconselhado: 784 unidades internacionais no regime estudado contra 10.000 unidades internacionais no regime aconselhado e que é a cota normal para os trabalhadores. Fato idêntico ocorre com a vitamina D. A demonstração desse fato justifica o que, no capítulo anterior, se chegou a assentar ao se fixar que a maior incidência das enfermidades do aparelho respiratório, se devem, precisamente, a uma hipovitaminose A.

À deficiência de cálcio e o desequilíbrio da relação Ca/Ph vem agregar-se a hipovitaminose D, como causa determinante do raquitismo.

Resta fazer referência a um fato, que pode dar margem a objeções, e que se relaciona com a porcentagem de proteínas animais e de ferro, as quais, nas rações estudadas, mantêm valores iguais aos do regime aconselhado. Tal se explica porque a quantidade de carne consumida supera, em dobro, a normal, que corresponde, por dia, ao indivíduo e, como êsse alimento é proteínico por excelência, por si só, na cota respectiva, faz com que as proteínas animais acusem cifras e valores, praticamente, normais.

O mesmo se dirá com relação ao ferro, cujo valor não se justifica, momentaneamente na dieta oferecida ao trabalhador, que vivendo na altitude local, não exige as quantidades de ferro iguais às requeridas na poliglobulia fisiológica das alturas. Neste, como no caso anterior, é, ainda, a carne quem traz maiores porções de ferro.

Não se dá o mesmo com o cálcio e o fósforo que são fundamentais e muito importantes dentro do processo integral da nutrição humana e cujas fontes naturais são o leite, o queijo e alguns vegetais, ausentes totalmente do regime em aprêço.

Em síntese concluímos que os característicos da alimentação, e os sistemas empregados na assistência alimentar constituem causas primordiais



e determinantes da grande incidência das moléstias carenciais, das doenças da alimentação, da excreção e da nutrição, que figuram, com outras, na estatística epidemiológica da região; constituem assim, fator determinante do estado de subalimentação (não de desnutrição propriamente) dos operários, com a gravidade e as conseqüências já referidas antes, e, finalmente, sob o aspecto econômico, as perdas da C.M., no setor alimentar operário, atribuímos à falta de técnica especializada nesse setor. Com base na experiência e na observação prática de fatos, é possível supor que a subalimentação, as doenças da nutrição, a tuberculose, as anemias, o impaludismo, as deficiências e as perdas econômicas poderão ser reparadas ou limitadas, desde que a alimentação se guie e se baseie em preceitos fundamentais da técnica, regedores da nutrição normal nas coletividades humanas.

#### 7.º — SUGESTÕES

a) *De ordem médico-higiênica e sanitária.*

1.º — *Organização* — A Comissão sugere a organização de Serviço ou Departamento Médico a ser dirigido por um médico responsável, com residência em Roboré, local mais apropriado para tal, e com jurisdição sobre toda extensão da ferrovia.

2.º — Esta organização deverá compreender seções médicas em San José, Roboré, El Carmen e Sta. Cruz, chefiadas por médicos auxiliados por pessoal especializado.

3.º — Nomeação de cirurgiões com sede residencial a ser fixada pelo chefe da Comissão Mista da E.F.C.S.C.

4.º — Organização de serviço cirúrgico adequado, servido pelos cirurgiões escolhidos de acordo com o item 3.º.

5.º — Organização de laboratório clínico central, em Roboré, e de duas seções nos hospitais de San José e de El Carmen.

6.º — Obrigatoriedade, para todos trabalhadores e empregados, da ficha médica respectiva, com anotações, na mesma, dos resultados radiológicos e sorológicos.

7.º — A função dos laboratórios seria examinar: muco nasal para depistagem da lepra; escarro e espútos para pesquisa de bacilos tuberculosos; fazer a pesquisa de hematozoários; exames de fezes para controle de parasitas intestinais, em especial da ancilostomíase.

8.º — Além dessas finalidades, de microbiologia e diagnósticos, teriam esses laboratórios de realizar certos exames bromatológicos, tais como análises química e bacteriológica das águas de abastecimento, utilizadas pelas populações compreendidas na zona servida pela estrada de ferro.

9.º — Regulamentar, de maneira sistemática, o exame médico, de 3 meses, para operários e empregados da E.F.C.S.C.

10.º — A Comissão deverá fornecer drogas e medicamentos aos operários e empregados.

11.º — Construção imediata do Hospital de Roboré, cujo projeto já está pronto. Esta construção representa necessidade inadiável para a região, e deve ajustar-se, dentro do possível, às indicações e observações que a Comissão Médica Mista preparou no presente relatório.

12.º — Estabelecimento de subdepósito central de drogas, em Roboré.

2.º — *Aspecto higiênico-sanitário.*

13.º — Criação do serviço de Engenharia Sanitária.

14.º — Captação de águas potáveis, e tratamento dos reservatórios de água, de acôrdo com as necessidades.

15.º — As análises das águas de abastecimento deverão ser repetidas cada vez que o exijam as circunstâncias, para verificação da potabilidade, condições de captação e conservação das instalações.

16.º — Imunização dos empregados e operários da E.F.C.S.C. como medida profilática contra as doenças infeto-contagiosas, endêmicas e epidêmicas.

17.º — A Comissão Médica recomenda atenção especial com referência às helmintoses intestinais. Além de uma campanha antiverminótica deverá ser realizado o levantamento do mapa helmintológico.

18.º — Igual levantamento deverá ser feito com relação ao impaldismo e a outras doenças.

19.º — Adoção de um sistema adequado de construções, para residências, tanto quanto possíveis confortáveis, e, sobretudo, dotadas de higiene, conforme as características da região.

Finalmente, organização do serviço odontológico na sede central e em cada seção ou residência, de acôrdo com a lei geral do trabalho.

b) *Aspecto alimentar.*

Sob o ponto de vista técnico, social e econômico, assim como da aquisição ou provisão de alimentos, preparo, distribuição, forma e condições de consumo dos gêneros alimentícios, se recomenda :

1.º — Para conseguir maior diversidade e preencher o princípio da variedade, consentâneos com o regime normal e racional da alimentação, fazer, no interior da Bolívia, aquisição de alimentos e de produtos alimentícios naturais mais baratos, e porque a maioria deles não se pode comprar no Brasil. Necessário complementar a lista de alimentos de procedência brasileira ; as farinhas de trigo e de milho deverão ser enriquecidas com vitaminas do complexo B ; a margarina, com vitaminas A e D, até serem atingidas as exigências normais aconselhadas (10.000 u. de vitamina A e 900 u. de vitamina D).

2.º — Instituir o uso sistemático e permanente das frutas cítricas.

3.º — Estatuir o consumo do leite sob forma pulverizada, podendo ser adquirido nos mercados bolivianos.

4.º — A fim de combater a cárie dentária e o bócio endêmico, aconselhar a iodização e fluoração da água de bebida.

5.º — Dentro do plano geral de realização sugerem-se a criação de granjas agrícolas de produção e o estabelecimento de prêmios para estímulo dos trabalhadores que evidenciem dedicação e rendimento.

6.º — O programa anterior será entregue, pela Comissão Mista da E.F.C.S.C., a técnicos em agricultura, permitindo assim que haja abastecimento de frutas e verduras comuns à região.

7.º — Distribuição gratuita de sementes.

8.º — Estabelecimento do serviço de visitadoras sociais, para investigação e realização de inquéritos familiares sôbre nutrição e divulgação alimentar, orientados por médico dietista.

9.º — Devem integrar a ração aconselhada, diariamente, e por pessoa, as substâncias alimentícias abaixo especificadas, em g :

Leite em pó .....	30
Queijo .....	50
Carne .....	300
Pão .....	300
Vegetais A .....	100
Vegetais B .....	200
Vegetais C .....	300
Farinhas, cereais e derivados .....	100
Legumes e derivados .....	100
Frutas A e B .....	300
Manteiga .....	30
Margarina .....	30
Café ou chá ou mate .....	q.s.
Sal .....	q.s.
Ervas e condimentos .....	q.s.

#### *Complementos*

Vitamina A.....	q.s. 10.000 u.i.
Vitamina B1.....	q.s. 0,0035 mg
Vitamina B <sup>2</sup> .....	q.s. 0,0035 mg
Vitamina D .....	q.s. 1.000 u.i.

Estas são referências para a categorização dos vegetais :

Vegetais A..... Aipo, salsão, agrião, cardo, couve-flor, escarola, aspargo, espinafre, alface, pepino, pimenta, rábano, repolhinho, repollo, tomate, beldroega, abobrinha.

Vegetais B..... Alcachofra, ervilha fresca, fava fresca, cebola, alface, xuxu, nabo, alho porro, beterraba, cenoura.

Vegetais C..... Batata, batata doce, milho verde, mandioca, oca, fécula de batata.

No grupo das farinhas, cereais e derivados, se compreendem os seguintes produtos : farinha de milho, de trigo, de mandioca, de arroz ; aveia, mandioca, semola.

Entre os cereais : trigo, milho, aveia. E entre os legumes e derivados : ervilha, fava, grão de bico, lentilha e feijão.

Entre as frutas do grupo A ; lima, limão, tangerina, laranja e toranja.

Entre as frutas do grupo B : pinha, banana, ameixa, damasco, pêssego, morango, figo, maçã, melão, marmelo, pera, uva e melancia.

Esta discriminação se fez com o intuito de demonstrar que, em cada grupo ou categoria de alimentos, se disporá de quanto baste, com o propósito

de variar as refeições e extinguir a monotonia do regime, que, na atualidade, caracteriza os cardápios dos restaurantes da Comissão Mista.

A seguir, fórmulas sintéticas e preparos da ração, por dia e por indivíduo :

*Desjejum : Café ou mate com leite*

Leite .....	250 g
Infusão de café.....	
Mate .....	50 g
Açúcar .....	15 g
Pão .....	100 g

*Almôço : Caldo de arroz*

Caldo .....	300 g
Arroz .....	30 g
Cenoura .....	20 g
Cebola.....	10 g
Manteiga .....	10 g
Ervas .....	q.s.
Sal .....	q.s.

*Assado com salada*

Carne .....	150 g
Alface .....	30 g
Azeite .....	15 g
Sal .....	q.s.

*Guisado de trigo*

Trigo .....	50 g
Batata.....	100 g
Carne .....	50 g
Cebola.....	10 g
Tomate .....	30 g
Manteiga .....	10 g
Pimenta .....	5 g
Sal .....	q.s.

*Picadinho de batatas*

Batata.....	100 g
Batatinha .....	50 g
Cebola.....	20 g
Carne .....	50 g
Manteiga .....	10 g
Sal .....	q.s.
Pão .....	50 g

*Sobremesa*

Fruta.....	100 g
------------	-------

*Lanche : Erva com leite*

Leite .....	250 g
Inf. de erva .....	50 g
Açúcar .....	15 g
Pão .....	100 g

*Jantar : Caldo de sêmola*

Caldo .....	300 g
Sêmola .....	30 g
Batata .....	50 g
Manteiga .....	10 g
Erva .....	q.s.
Sal .....	q.s.

*Guisado de trigo*

Trigo .....	40 g
Batata .....	100 g
Carne .....	50 g
Tomate .....	20 g
Manteiga .....	10 g
Condimentos .....	q.s.
Sal .....	q.s.
Pimenta .....	5 g

*Tojori*

Milho descascado .....	50 g
Açúcar ou mel .....	20 g
Casca de laranja .....	q.s.
Pão .....	50 g

*Sobremesa*

Fruta (unidade).

O custo da refeição, diariamente, e por pessoa, calculado nas bases dos preços vigentes no mercado de La Paz, é de Bs 40, inclusive o combustível.

Tênicamente, o regime aconselhado corresponde às exigências do trabalhador, permitindo maior rendimento físico nos serviços, sem alteração das condições e do estado sanitário de quem o efetua, acautelando direitos e prerrogativas sociais coletivos, sem olvidar o lado econômico, nítido e essencial, tanto para os interesses da Comissão Mista como para a capacidade aquisitiva do operário.

10.º — Para os trabalhadores que preferem abastecimento individual e familiar, a lista servirá ainda para orientar a Comissão Mista que fará o racionamento de acordo com as necessidades vitais e possibilidades econômicas de cada um.

11.º — Obrigar os trabalhadores à frequência de restaurantes e pensões, bem como à obediência de regulamento baixado pela Direção dos Serviços de Assistência e de Alimentação, a ser criada como Seção Técnica da Direção Central do Departamento Médico da Comissão Mista.

12.º — Êsses Serviços de Assistência estudarão e proporão as melhores formas de dar cumprimento às disposições anteriores, distribuindo vales mensais, pessoais e intransferíveis, e familiares, êstes de acôrdo com a declaração obrigatória da composição da família.

13.º — Pela experiência obtida em outros setores com êste tipo de assistência social alimentar e os métodos atuais para coletividades, é sugerida a criação de um Serviço Técnico para atender àquela obra assistencial, devendo o mencionado serviço estar sob a direção de médico dietista, assessorado por pessoal especializado, de conformidade com os artigos n. 60, n. 70, e n. 80 da Lei de 6 de novembro de 1945.

### SUMMARY

The sanitary and health conditions of the workers of the Corumbá-Santa Cruz Railway were studied in this paper. Environment, way of living, customs, work, food, and alimentation were also considered. A medical commission constituted by Brazilian and Bolivian scientists was designed to run the region along this railway. The members of the medical commission stayed in several places to study hospitals, restaurants, bakeries, workers' houses, sanitary boards, pharmacies, small farms, encampments, offices, factories, etc.

The workers' alimentation was minutely studied and the employed methods criticized.

The medical commission made the following suggestions :

- 1 — Organization of a surgical service for the workers of this railway.
- 2 — Organization of a medical department managed by a physician living in Roboré with authority along the railway and medical sections in San José, Roboré, El Carmen and Santa Cruz.
- 3 — Organization of a central laboratory in Roboré, and two more in San José and El Carmen respectively, for clinical examinations, principally :
  - a) nasal mucus (diagnostic of leprosy) ; b) sputum (search of tuberculous bacilli) ; c) blood (malaria parasite) ; d) faeces (intestinal parasites specially hookworm disease) ; e) analyses of water (bacteriology and chemistry of drinking water).
- 4 — Medical examinations for the workers of the Corumbá-Santa Cruz Railway, every three months.
- 5 — Construction of a hospital in Roboré, which is a great necessity for the region, according to the medical commission's indication.
- 6 — Organization of a service of sanitary engineering.
- 7 — Immunization of the workers of Corumbá-Santa Cruz Railway, as a prophylaxis against contagious diseases.
- 8 — Construction of comfortable, hygienical houses in accordance with the characteristics of the region.
- 9 — Organization of an odontological service in Roboré and in other places along the Corumbá-Santa Cruz Railway.

10 — Obligation of the workers to buy food in Bolivia, since it is not possible to acquire this in good conditions in Brazil. It is necessary to complement the following brazilian foods, as wheat flour or corn meal, with vitamins B ; margarine with vitamins A and D.









11 — Establishment of the permanent and systematical use of the citrus fruits, and the consumption of milk in powder.

12 — Treatment of the drinking water with iodine and fluor in order to fight against the dental caries and the endemic goiter.

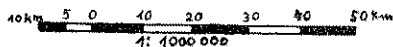
13 — Organization of agricultural farms to stimulate farmers by the distribution of rewards.

14 — Establishment of a technical department under the direction of a physician specialized in nutrition and to minister instructions on food and dietetics.

# LEGENDA

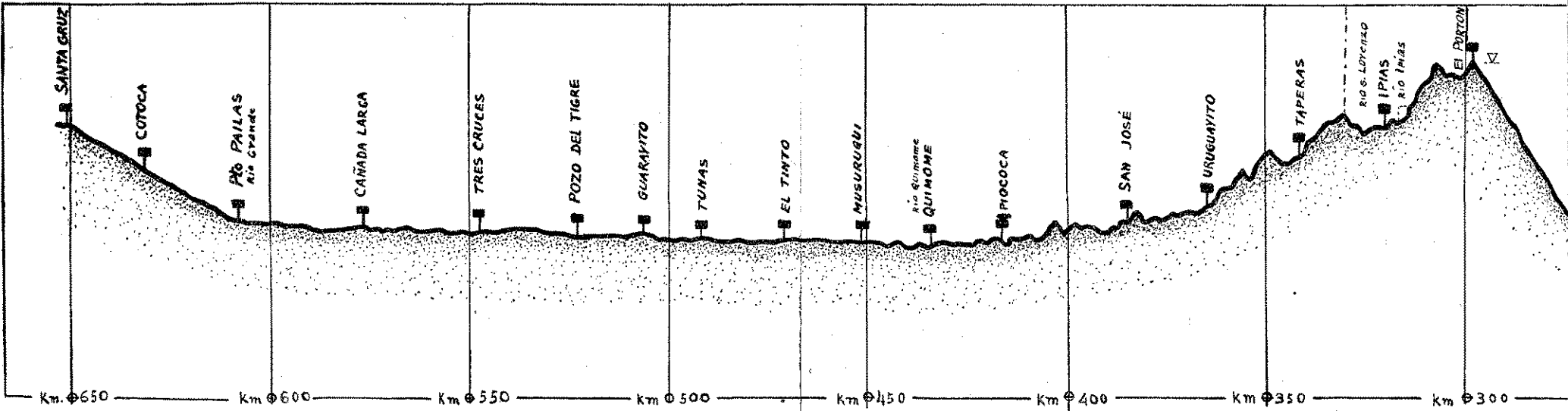
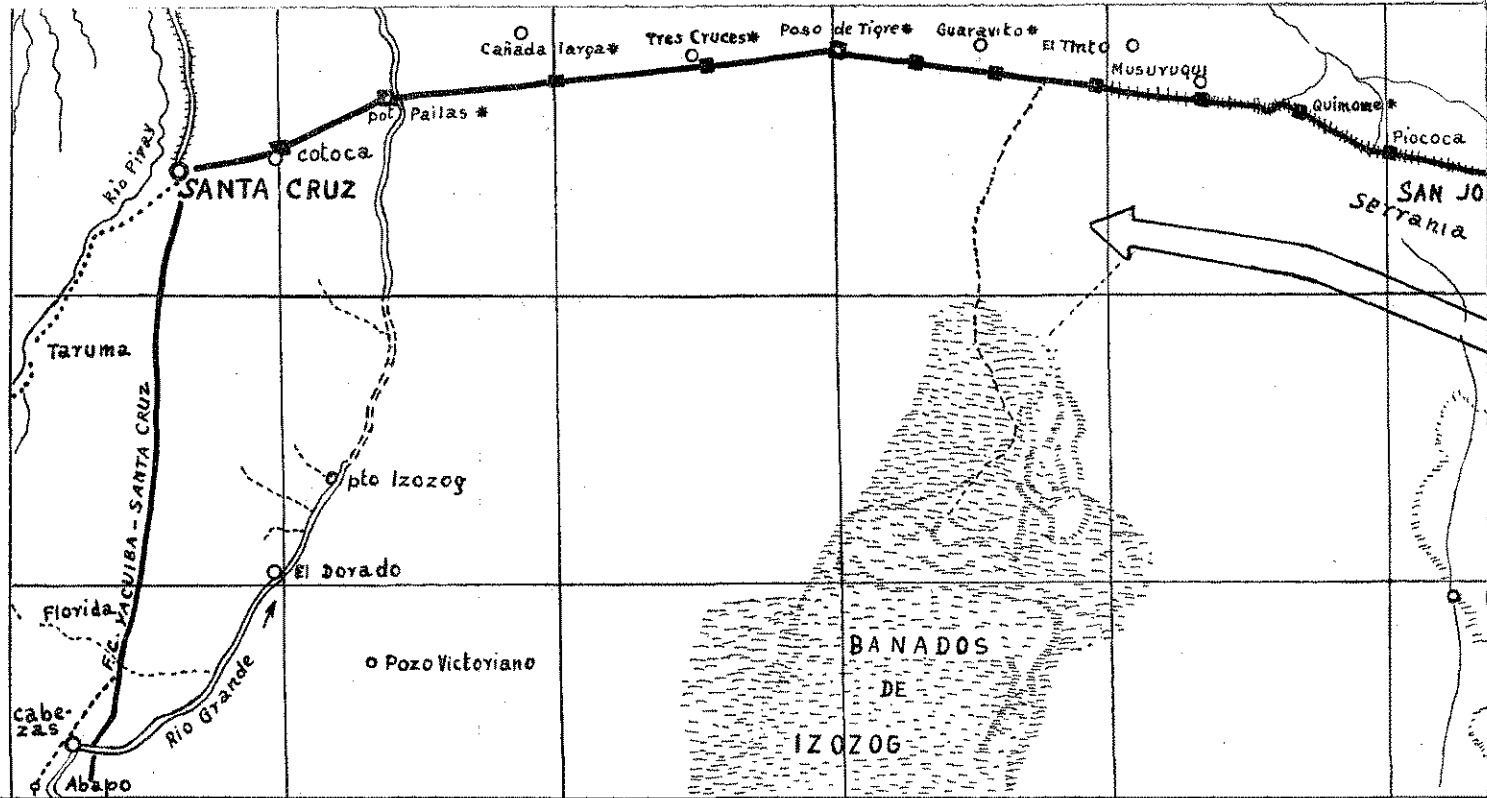
-  E.F. Construida
-  E.F. em construção
-  E.F. projetada  
(Grether)
-  E.F. estudada  
(Variante)
-  Estação
-  Caminhos
-  Petroleo
-  P. Coordenada

ESCALA:



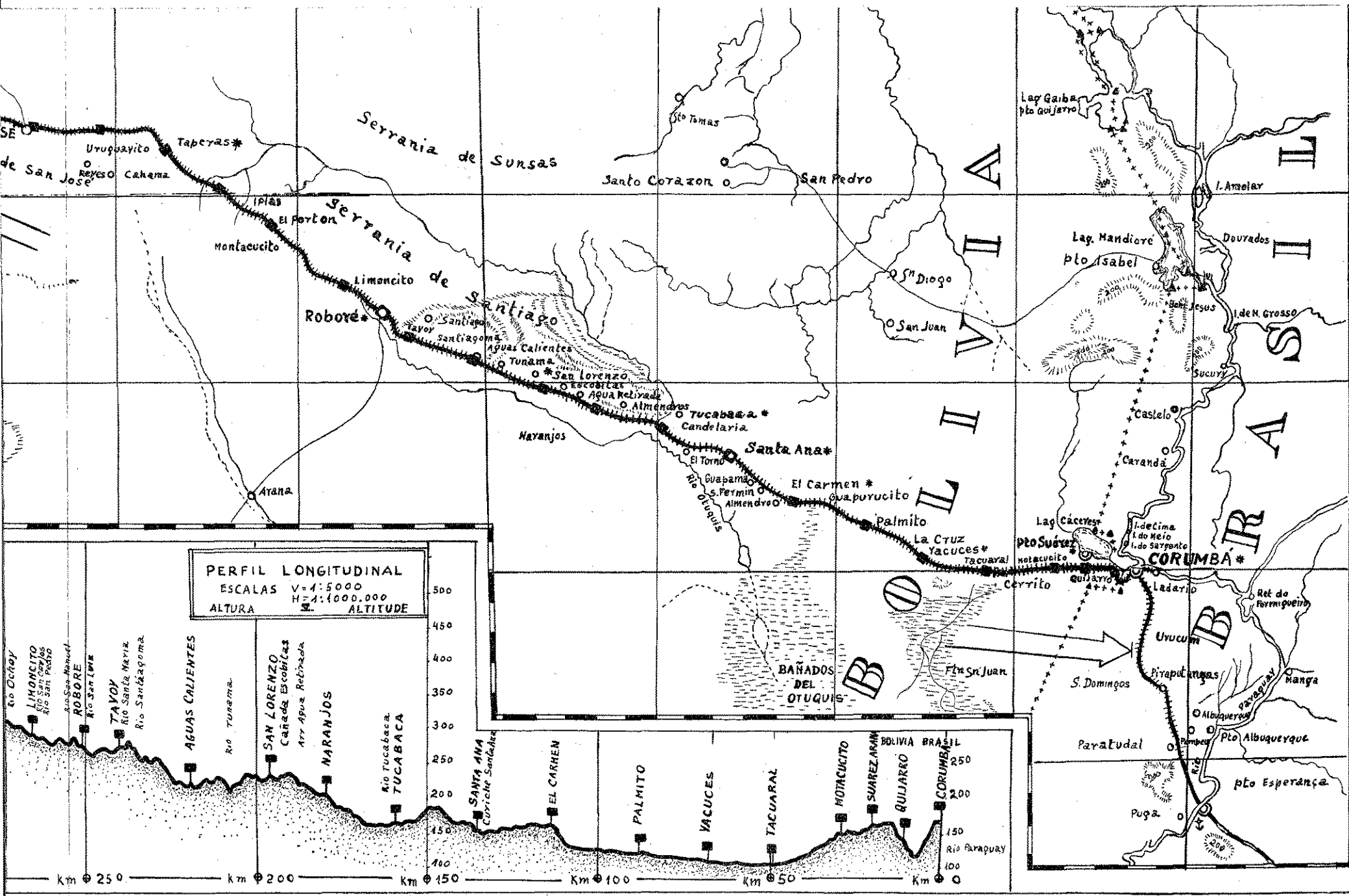
INSTITUTO ADOLFO LUIZ  
Desenho  
Folha N.º 37  
Data 12-10-37  
Auto. 1000/37

Des: Emilia A. Almeida

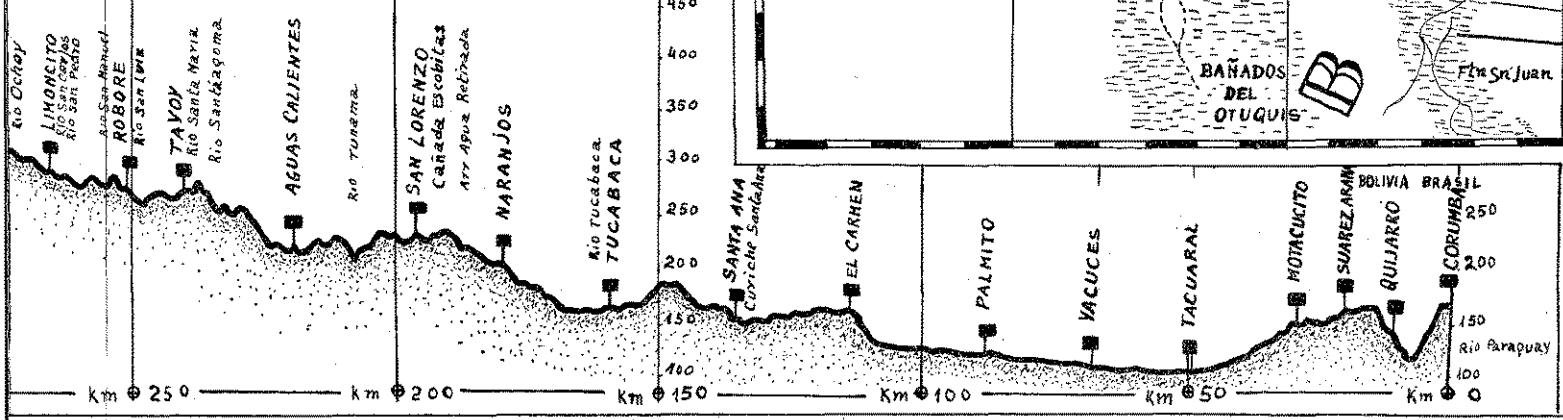


Traçado da Estrada de Ferro





**PERFIL LONGITUDINAL**  
 ESCALAS V=1:5000  
 H=1:1000.000  
 ALTURA ALTITUDE



Corumbá-Santa Cruz.

## APHELENCHOIDES COFFEÆ EM RAÍZES DE GERÂNIO

por

JAIR CORRÊA CARVALHO

*Engenheiro agrônomo do Instituto Biológico  
em comissão no Instituto Adolfo Lutz*

De um canteiro do parque do Instituto Biológico, com alguns pés de gerânio (*Pelargonium sp.*), examinamos o solo e as raízes dessa planta, encontrando, entre outros nematóides, um de menor porte, porém mais abundante do que os outros nas lâminas preparadas.

Pareceu-nos, sob lente de fraco aumento, uma espécie *Aphelenchoides*. Observado, cuidadosamente, sob lente mais poderosa, verificamos tratar-se da espécie *Aphelenchoides coffeæ* (Zimmerman, 1898) Steiner, 1937 (1).

A espécie foi encontrada pela primeira vez em raízes doentes de cafeeiro, em Java, e descrita por Zimmerman (1898. Meded. S'Lands Plantentuin 27 (1) 44) com o nome de *Aphelenchus coffeæ*. Em 1922, Micoletzki fê-la sinônimo de *Aphelenchoides parietinus* (Bastian, 1865) Steiner, 1932, sendo, então, seguido por outros autores.

STEINER (1937), ao receber cultura de ágar com nematóides que lhe mandou o Dr. Fawcett, quando esteve no Instituto Biológico, verificou a presença da espécie criada por Zimmerman, redescrivendo-a. Em sua descrição, porém, Steiner só considerou as fêmeas e, por não ter encontrado machos, sugeriu a possibilidade de tratar-se de espécie cuja multiplicação se dê por um hermafroditismo protândrico.

O material por nós coletado no canteiro de gerânio era rico de espécimes da espécie *A. coffeæ* e, entre tantas fêmeas, pudemos colher regular quantidade de machos para estudo dos seus caracteres morfológicos. Desejamos, assim, completar a descrição da espécie feita por Steiner, incluindo a parte referente aos machos.

*Aphelenchoides coffeæ* (Zimmerman) STEINER, 1937.

Descrição: — Fêmea; compr. total — 0,590 mm a 0,738 mm; a = 20-33; b = 8,7-10,5; c = 14-17,5; v 66% — 84%.

Corpo delgado, com cabeça em forma de botão. Estilete bucal, 8 $\mu$  a 9 $\mu$  de comprimento, com pequenos inchaços basais, provenientes do engrossamento das suas paredes (Fig. 1-c). Anéis cuticulares do pescoço com cêrca de 1 $\mu$  de largura. Campos laterais com 3,5 $\mu$  a 4 $\mu$  de largura ou 1/5 do diâ-

Entregue para publicação em 9 de agosto de 1953.

(1) — A lâmina foi enviada ao Dr. Steiner, que confirmou nossa identificação.

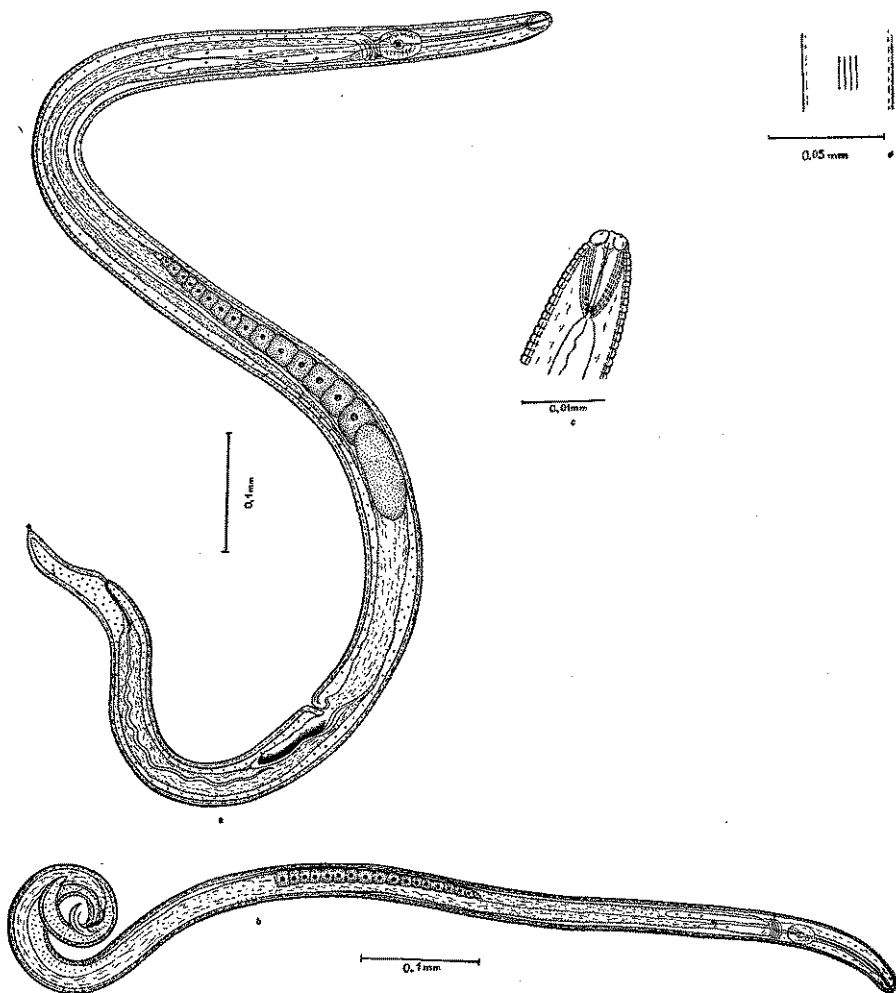


Fig. 1. *Aphelenchoides coffea*: a, fêmea, vista lateral; b, macho; c, cabeça do macho, vista lateral; d, vista do setor lateral da cutícula, mostrando as 4 estrias longitudinais.

metro do corpo e com 3 faixas, limitadas por 4 estrias longitudinais (Fig. 1-d). Diferencia-se de *A. parietinus*, cujos campos laterais têm somente 2 estrias longitudinais, com  $2\mu$  de largura. Esôfago tipicamente afelencóideo. Glândulas esofageanas muito delgadas, situadas no lado dorsal do intestino, bem atrás do anel de nervos. Porção pre-retal, muitas vezes diferenciada da parte precedente por uma aparência granulada mais fina e transparente. Comprimento do reto 2 vezes a largura do corpo na região anal. Aparêlho sexual da fêmea marcadamente curto; ovário nunca encurvado, consistindo de somente  $1/4$  a  $1/3$  da distância da vulva ao ânus. Ovos de  $42\mu$  de comprimento por  $17\mu$  de largura. Término da cauda um tanto variável, mas freqüentemente observado, como mostra a fig. 1-a.

Macho: — comprimento total = 0,455 mm a 0,525 mm; a = 29-41; b = 8-9,7; c = 13-18; T 63.

Corpo um pouco menor do que o da fêmea; testículos simples, não encurvados. Cauda com um comprimento de 3 vezes o diâmetro do corpo na região anal; enrolada uma volta e meia (1), com 3 pares de papilas, sendo 1 par em posição adanal, 1 par post-anal (mais ou menos no meio da cauda) e 1 par sub-terminal. Espículos grandes ( $12\mu$  a  $13\mu$ ) ligados, com forma de espinho de roseira, ventralmente arqueados; sem gubernáculo.

#### THE MALE DESCRIPTION

Male: Total length — 0.455 mm to 0.525 mm; a = 29-41; b = 8-9.7; c = 13-18; T 63.

Body smaller than the female; non-reflexed testis. Tail 3 anal diameters long, strongly curved, with 3 pairs of copulatory papillae: 1 adanal pair, 1 postanal pair (halfway the tail length) and 1 sub-terminal pair. Spicula large,  $12\mu$  to  $13\mu$ , rose thorn-shaped, ventrally arcuated. Gubernaculum absent.

*Diagnosis only to the male.* — With the characters of *A. parietinus* lateral fields about twice as wide as in *A. parietinus* (3.5 to  $4\mu$  as against  $2\mu$  in *A. parietinus*) with 4 longitudinal striae against 3 striae in *A. parietinus* with 4 longitudinal striae against 3 striae in *A. parietinus*. Never reflexed testis. Strongly curved tail.

#### RESUMO

Neste trabalho, o autor assinala o aparecimento de machos da espécie *Aphelenchoides coffeae*, até então desconhecidos.

#### SUMMARY

In this paper the author refers to the appearance of males of the *Aphelenchoides coffeae* unknown until now.

#### BIBLIOGRAFIA

- STEINER, G. — 1937 — Opuscula miscellanea nematológica, VI. The status of the nematode *Aphelenchoides coffeae* (Zimmerman, 1898), n. comb. *Proc. Helminthol. Soc. Washington* 4 (2): 48-52.

(1) — Todos os machos encontrados tinham a cauda enrolada com uma volta e meia.



# A OCORRÊNCIA DE NEMATÓIDES EM MASSA DE TOMATE

por

JAIR CORRÊA DE CARVALHO

*Engenheiro agrônomo do Instituto Biológico,  
em comissão no Instituto Adolfo Lutz*

e

MARCELO OSWALDO ÁLVARES CORRÊA

*Médico do Instituto Adolfo Lutz*

## INTRODUÇÃO

Há cêrca de 3 anos, deu entrada no pôrto de Santos, procedente da Argentina, uma partida de latas de massa de tomate, destinadas ao consumo da população de São Paulo. Amostras dessa massa, trazidas ao Instituto Adolfo Lutz para exame, revelaram tratar-se de produto de má qualidade e impróprio para o consumo. É que os técnicos encontraram, misturada à massa, enorme quantidade de nematóides que haviam sido cozidos nas operações de preparo do produto. O exame microscópico mostrou numerosas fêmeas cuja cutícula, rompida pelo calor, deixava sair os ovos do ovário. Competia às autoridades sanitárias evitar que o povo consumisse um tal produto, capaz de provocar distúrbios gástricos.

Procurando a causa do aparecimento desses helmintos na massa de tomate, excluímos, desde logo, a possibilidade remota de ser êle parasita do fruto. Na literatura, só encontramos um caso de parasitismo do fruto do tomateiro, que GOODEY (1941) atribuiu a uma espécie de *Aphelenchoides*, gênero êste do qual o nematóide da massa de tomate se diferencia pelos caracteres morfológicos. Baseados no fato de ser a massa de tomate um meio ácido, lembramos a possibilidade de ser êle o nematóide do vinagre — *Turbatrix aceti* (Muller, 1783) v. *aceti* Peters, 1937. Por essa ocasião, encontrava-se entre nós o Dr. G. Steiner, chefe da Divisão de Nematologia do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, que, examinando o material, identificou os helmintos como pertencentes ao gênero *Panagrellus*, gênero êste criado por THORNE (1938), ao qual foram incluídas algumas espécies até então agrupadas no gênero *Turbatrix* e dêle retiradas em virtude de caracteres diferenciais.

Identificado o helminto, foi-nos possível deduzir que o aparecimento desses nematóides na massa de tomate decorreu da falta de cuidado e asseio na sua fabricação, pois as espécies desse gênero não são parasitas, mas

ocorrem freqüentemente em massa sujeita à fermentação, como é o caso da massa de tomate, que constitui meio de cultura para sua multiplicação. Êsses helmintos são levados às massas fermentáveis, segundo admitem os autores, por moscas do gênero *Drosophila*, de maneira semelhante ao que ocorre com a propagação das espécies de *Turbatrix*. A espécie *Panagrellus redivivus* (LINN., 1767) GOODEY, 1945, é encontrada comumente na cola dos encadernadores de livros e na dos pregadores de papel, onde se multiplica rapidamente. Por isso é chamado o nematóide das massas ácidas (the sour paste eelworm).

Com o objetivo de conhecer melhor o helminto da massa de tomate, fizemos dezenas de preparações, à procura de alguns espécimes em melhores condições para o estudo dos seus caracteres e, assim, identificar a sua espécie. Uma vez realizado êsse estudo da melhor maneira possível, fizemos trabalho semelhante com a espécie *Turbatrix aceti*, que nos foi fornecida pelo Snr. Jordano Maniero, da Secção de Microscopia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz, para fins comparativos com o *Panagrellus sp.* da massa de tomate.

### DESCRIÇÃO DAS ESPÉCIES ESTUDADAS

#### a) *Panagrellus sp.*

Fêmea : compr. 1,015 — 1,750 ; larg. 0,032 — 0,056 mm

a = 26,4 — 35 ; b = 6,5 — 9,6 ; c = 6,6 — 13,5 ; V = 57-80%

Macho : compr. 1,190 — 1,205 mm ; larg. : 0,038 — 0,042 mm

a = 28,3 — 31,2 ; b = 6,5 — 9,6 ; Espículos : 0,056 mm

Observa-se alguma variação do tamanho do nematóide, o que é freqüente também nas outras espécies do gênero *Panagrellus* e de *Turbatrix*, segundo afirmam os autores.

Corpo delgado, afinando ligeiramente na parte anterior e pronunciadamente na posterior (Fig. 1-a-b). Cabeça com 6 lábios arredondados e algo achatados, cada um com sua papila respectiva. Cavidade bucal cilíndrica ; quilorrábditions fracos, protóstoma curto com prorrábditions proeminentes. Meso, meta e telorrábditions obscuros e formando a parte inicial afunilada do esôfago (Fig. 1-c). Êste tem a característica forma panagrolaimóidea ; pré-corpus e corpus sem o bulbo mediano distinto ; istmo um tanto curto e bulbo terminal quase esférico e munido de válvula. Anel de nervos justamente no fim do istmo, quase descansando sôbre o bulbo terminal. Gônada da fêmea prodéfica, encurvada, com o ovário estendendo-se para trás do corpo e alcançando quase o fim dos intestinos. Vagina com paredes musculares e com saco uterino post-vulvar. Útero largo e espaçoso, mantendo numerosos ovos. Gônada do macho simples, encurvada na parte anterior. Espículos emparelhados, ventralmente arqueados, com um inchaço na frente e um gancho curvado para o lado ventral ; pontas bífidas e uma membrana fina que parte da cabeça até às pontas dos espículos. Gubernáculo simples, constituído de uma barra ligeiramente curva, sem a expansão em forma de cunha e sem presilhas. Cauda longa e finamente despontada com 6 pares de papilas ; os 2 primeiros são pré-anais e subven-

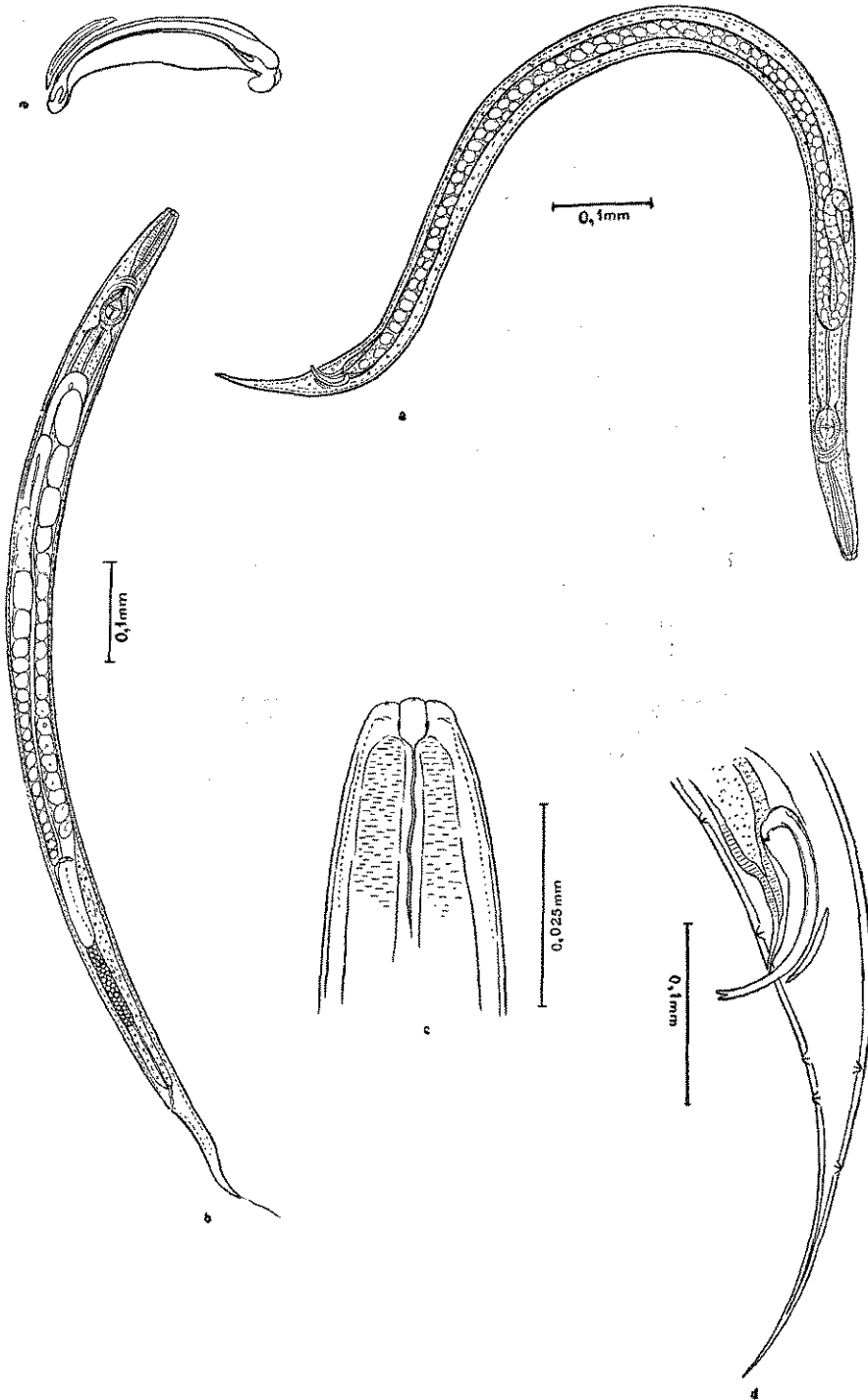


Fig. 1. *Panagrellus redivivus*: a, macho; b, fêmea; c, cabeça; d, cauda do macho; e, espículos, segundo Goodey.



trais ; o 3.º e o 4.º são post-anais e subventrais ; o 5.º e 6.º são post-anais e dorsais (Fig. 1-d).

b) *Turbatrix aceti*

Fêmea : compr. 1,408 — 2,046 mm ; larg. 0,035 — 0,050 mm

a = 38,6 — 49,9 ; b = 6,7 — 9,5 ; c = 6,3 — 9,9 ; V = 56 — 62%

Macho ; compr. 1,364 — 1,476 ; larg. : 0,033 — 0,044

a=31 — 44 ; b=6,5 — 7,0 ; c=8,3 — 8,9 ; Espículos : 35-37 $\mu$

Tamanho da fêmea muito variável. Corpo delgado, afinando ligeiramente na parte anterior e pronunciadamente na parte posterior até a cauda longa e afilada. Cutícula com estrias muito finas. Cabeça um tanto achatada, não proeminente ; lábios não separados, mas fundidos e enxertados no estoma ; 6 papilas apicais formam o círculo ao redor da boca. Estoma composto de duas partes, uma constituída do quilóstomo como forma de cúpola, com quilorrábdions um pouco mais largos atrás do que na frente e descansando sobre o protóstoma com forma de funil, colocado no começo do esôfago. Protóstoma composto de pro, meso e metarrábdions fundidos juntos. Do lado dorsal, um dente e, do lado oposto, duas expansões sob as quais há dois dentes diretamente dirigidos para frente (Fig. 2-b). Esôfago panagrolaimóideo ; pre-corpus e corpus confundidos e afinando gradualmente para o istmo. Este termina no bulbo, que é quase esférico e munido de válvula. Poro excretor não observado. Intestino e cavidade do corpo ricos de glóbulos de gordura. Fêmea : gônada simples, prodéfica e encurvada ; ovário estendendo-se para trás sem outras flexões até sua ponta alcançar alguma distância além do nível da vulva, mas não chegando até o fim dos intestinos (Fig. 2-a). Eventualmente, encontramos uma fêmea com ovário como mostra a fig. 2-c. Útero não muito extenso, com um saco post-vulvar curto e largo. Vagina dirigida para a frente e sem paredes musculares. Macho : gônada simples encurvada anteriormente. Espículos com curvatura sigmóide, quando vistos lateralmente, ligeiramente inchados na frente e com cabeça despontada e curvada dorsalmente. Desta, parte uma fina membrana, como asa, que se estende ventralmente até a ponta dos espículos, sem, contudo, abranger a peça romboidal que se observa na ponta destes e exhibe posteriormente uma asa com forma de cunha. Cinco pares de papilas caudais ; 2 pre-anais, sub-ventrais ; 1 adanal sub-ventral ; 1 post-anal sub-ventral ; 1 post-anal dorsal. Cauda longa e despontando até uma ponta finíssima (Fig. 2-d).

#### RESUMO E CONCLUSÕES

Pela descrição das duas espécies *Turbatrix aceti* e *Panagrellus sp.* da massa de tomate, podemos observar os principais caracteres diferenciais, tais como : estrutura da cabeça, forma e composição da boca e a conformação dos espículos do macho. Em *Turbatrix*, os lábios são fundidos e a boca tem uma parte anterior, o quilóstomo, com forma de cúpola e posteriormente como funil, com um dente dorsal e dois sub-ventrais, enquanto,

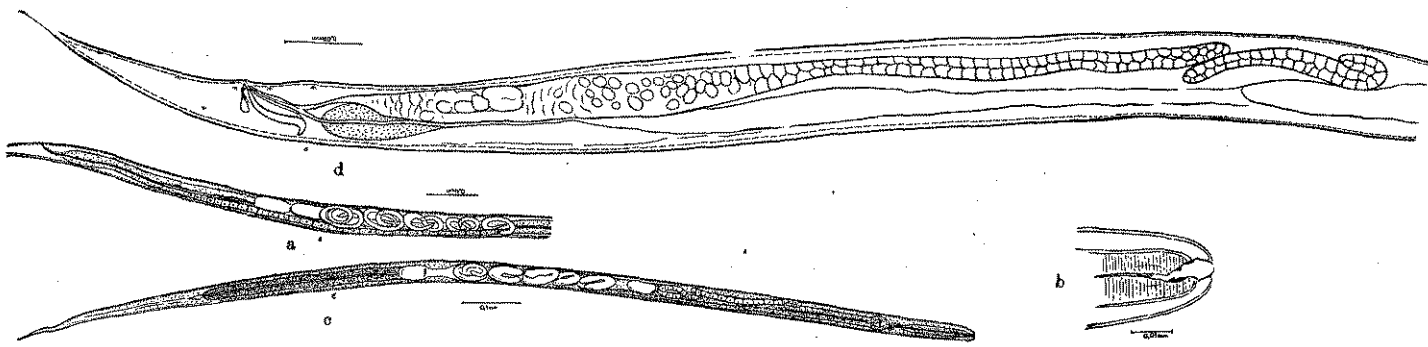


Fig. 2. *Turbatrix aceti*: a, parte posterior da fêmea; b, cabeça do macho; c, fêmea com ovário em posição anormal; d. cauda do macho.

em *Panagrellus*, os lábios são distintos e arredondados; a cavidade bucal é cilíndrica e posteriormente forma a parte afunilada do esôfago. Os espículos do *Turbatrix* têm a forma sigmóide, quando vistos de lado, com pequena dilatação próxima à cabeça. Esta é curvada para o lado dorsal. A ponta dos espículos é acompanhada de uma peça romboidal e o gubernáculo tem a forma de uma barra curvada, como cunha (GOODEY, 1943). Em *Panagrellus*, os espículos são curvados ventralmente e inchados na parte anterior e com um gancho curvado para o lado ventral, terminando com pontas bifidas. Gubernáculo simples sem a expansão em forma de cunha.

Notadas essas diferenças que afastam o helminto de *Turbatrix aceti*, procuramos identificá-lo entre as espécies do gênero *Panagrellus*, ou sejam, *P. redivivus*, (Linn. 1767) Goodey, 1945, *P. ludwigii* (de Man. 1910) Goodey, 1945, *P. silusix* (de Man. 1913) Goodey, 1945, *P. nepenthicola* (Menzel, 1920) Goodey, 1945, *P. leucocephalus* (Steiner 1936) Goodey, 1945, *P. pycnus* Thorne, 1938, *P. redivooides* (Goodey, 1943) Goodey, 1945. Assim, estudamos os caracteres dessas espécies, através das descrições dos autores, e os comparamos com as da espécie da massa de tomate. Desta forma, fomos eliminando as que exibiam caracteres diferentes. Baseados na forma dos espículos, afastamos a nossa espécie de *P. pycnus*, *P. ludwigii*, *P. nepenthicola*, *P. redivooides* e *P. leucocephalus*, STEINER (1936). Estas duas últimas espécies têm gubernáculo munido de uma presilha, que não notamos na espécie estudada. Observamos alguns espécimes cuja cabeça apresentava certa semelhança com *P. leucocephalus*, mas acreditamos ser devido às alterações sofridas pelo nematóide durante as operações de cozimento da massa. Confrontando a estrutura da cabeça (Fig. 1-c) e a conformação dos espículos (Fig. 1-d) da nossa espécie com a cabeça e os espículos (Fig. 1-e) de *P. redivivus*, não podemos deixar de notar que são muito semelhantes. Em ambos, a boca é em forma de um cilindro curto, terminando posteriormente em funil e com prorrábditions proeminentes; os espículos têm pontas bifidas e parte superior inchada, seguida de uma cabeça curvada ventralmente. Baseados na semelhança desses caracteres, julgamos que o helminto da massa de tomate seja da espécie *Panagrellus redivivus*.

#### SUMMARY

There were found many nematodes in one Argentine tomato paste. The sanitary authorities, taking this fact into consideration, condemned the use of this paste.

A comparative study of this nematode and the vinegar eelworm, *Turbatrix aceti*, revealed that it does not belong to this species but to the genus *Panagrellus*, species *P. redivivus*.

#### BIBLIOGRAFIA

- GOODEY, T. e S. H. BENNETT — 1941 — On the occurrence of the chrysanthemum eelworm, *Aphelenchoides ritzema-bosi*, in a tomato fruit. *J. Helminthology* 19 (3-4): 123-126.

- GOODEY, T. — 1943 — On the systematic relationships of the vinegar eelworm, *Turbatrix aceti*, and its congeners, with a description of a new species. *J. Helminthology* 21 (1): 1-9.
- STEINER, G. — 1936 — Opuscula miscellanea nematologica, III. (II) A new *Neocephalobus* species feeding on a species of *Ceratostomella*, a fungus living in the scarlet oak (*Quercus coccinea* Moench). *Proc. Helminthol. Soc. Washington* 3 (1): 18-20.
- THORNE, G. — 1938 — Notes on free-living and plant-parasitic nematodes. IV. *Panagrellus pycnus* n. g., n. sp. (Cephalobidae, Panagrolaiminae). *Proc. Helminthol. Soc. Washington* 5 (2): 64-65.



# MÉTODO FÁCIL E RÁPIDO PARA COLORAÇÃO DE TREPONEMAS

(2.ª comunicação)

por

LUÍS DE SALLES GOMES

*Diretor da Diretoria de Microbiologia e  
Diagnóstico do Instituto Adolfo Lutz*

Em trabalho anterior, apresentado ao 5.º Congresso Internacional de Microbiologia (agosto de 1950 — Rio de Janeiro) e publicado na “Revista do Instituto Adolfo Lutz” e na “Revista Paulista de Medicina”, dei a conhecer um “Método fácil e rápido para coloração de Treponemas”, baseado na tinta americana de escrever, “Superchrome”, azul-escura, “Parker 51”.

Nessa ocasião, porém, adverti que nem tôdas as tintas “superchrome” azul-escuras (blue-black) se prestavam àquela coloração, mas, certamente, um vidro dela que eu possuía, dava, infalivelmente, resultados positivos.

Esse trabalho recebeu agora a confirmação de E. T. Emura, do Departamento de Dermatologia e Sifilografia da Universidade norte-americana de Cincinnati, o qual, aliás, baseou sua publicação num ligeiro resumo da monografia original, publicado no J.A.M.A. 148 (1) : 135. 1952.

Continuando os estudos por mim iniciados sobre o assunto, posso agora adiantar mais o seguinte :

- 1.º — as tintas azul-escuras fabricadas pela “The Parker Pen Company” de Janesville Wisconsin. E. U., têm 4 fórmulas químicas diferentes :
  - n.º 3.390 — tinta ASB — ácido dissulfônico da diaminostilbena copulado a 2 moles de Ácido Chicago (1 amino — 8 naftol — 2,4 ácido dissulfônico) ;
  - n.º 2.448 — tinta azul OCB — diclorobenzidina copulado a 2 moles de ácido Chicago ;
  - n.º 2.389 — tinta azul ASB mais tinta preta forte NK (mistura de côres) ;
  - n.º 1.755 — tinta azul G (côr index n.º 518) — Dianisidina copulada a 2 moles de Ácido Chicago ;
- 2.º — destas 4 amostras de tinta líquida que me foram gentilmente enviadas pelos produtores, somente uma corou Treponemas, correspondendo, assim, à amostra em meu poder e que serviu de base ao trabalho que anteriormente publiquei : é a tinta azul ASB,

quimicamente correspondente ao ácido dissulfônico da diaminostilbena copulado a 2 moles de ácido de Chicago (1 amino — 8 naftol — 2,4 ácido dissulfônico), de acôrdo, aliás, com a carta que recebi do químico J. Fedelman, da Parker Pen Co., em 22-11-1950 ;

- 3.º — a tinta ASB, em pó (6 decigramas) após diluição em 100 ml de álcool etílico absoluto, adicionada de 10% de água destilada, e filtrada em papel, cora também os Treponemas como a tinta "Superchrome" original, já diluída, com a grande vantagem porém de serem as partículas suspensas no corante alcoólico filtrado, de tamanho muito diminuto e distribuídas uniformemente nos esfregaços ;
- 4.º — a técnica para coloração é igual à indicada no nosso trabalho anterior ;
- 5.º — o dissolvente usado na diluição da tinta "Superchrome" Parker 51, cuja fórmula aliás, é segredo dos fabricantes, não tem influência nenhuma na coloração ;
- 6.º — fica assim esclarecido que somente o corante componente da tinta ASB — (Ácido dissulfônico da diaminostilbena copulado a 2 moles de Ácido de Chicago) constitui o agente químico dotado de afinidade especial para os Treponemas e responsável pela coloração.

#### AN EASY AND RAPID STAINING METHOD FOR TREPONEMATA (2nd note)

##### SUMMARY

In a previous work, the author presented to the 5th International Congress of Microbiology (Rio de Janeiro, August 1950) and published in "Revista do Instituto Adolfo Lutz" a new method to stain Treponemata based on the application of blue-black Superchrome ink, Parker 51.

On further research he established that :

1<sup>st</sup> — The blue-black inks put on the market by "The Parker Pen Co." (Janesville, Wisc. U.S.A.) have 4 different formulae under n.ºs 3390 — 2448 — 2389 — 1755.

2<sup>nd</sup> — Only n.º 3390 — Ink blue ASB (diaminostilbene disulfonic acid-coupled to 2 moles of Chicago Acid) stained the Treponemata well. The other three samples did not stain at all.

3<sup>rd</sup> — 6 decigrams of the powdered ink ASB, diluted in 100 ml. absolute alcohol by the addition of about 10% distilled water, filtered through filter paper, also stain Treponemata perfectly well, thus showing that the solvent of the Superchrome liquid ink in the market, the formula of which is a secret kept by the makers, has no influence on the staining power of the ink.

BIBLIOGRAFIA

- GOMES, L. DE SALLES — 1951 — Método fácil e rápido para coloração de treponemas. *Rev. Paul. Med.* 38 (1): 40-42.
- EMURA, E. T. — 1953 — Rapid and easy method for staining spirochetes with fountain pen ink. *Arch. Derm. Syph.* 67 (2): 210-212.



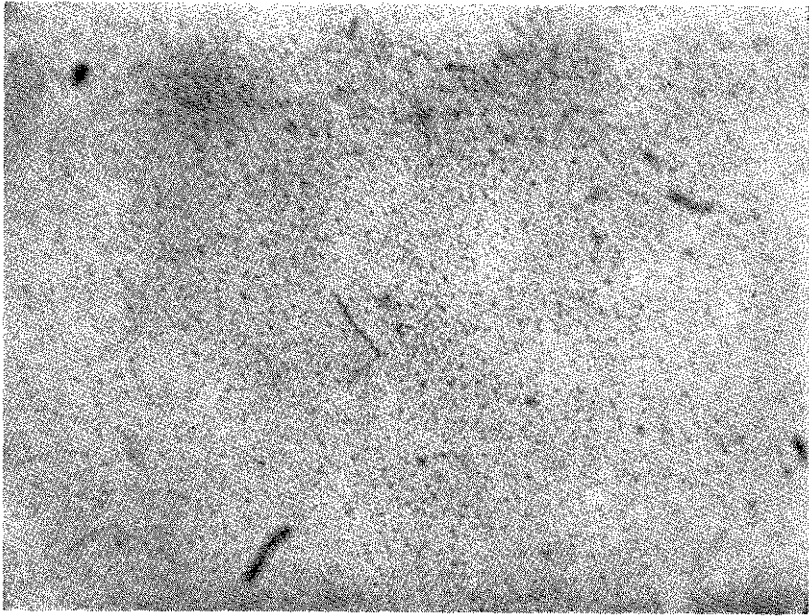


Fig. 1 — *Treponema pallidum* corado pela solução alcoólica do pó da tinta Parker 51, "Superchrome", azul-escuro.

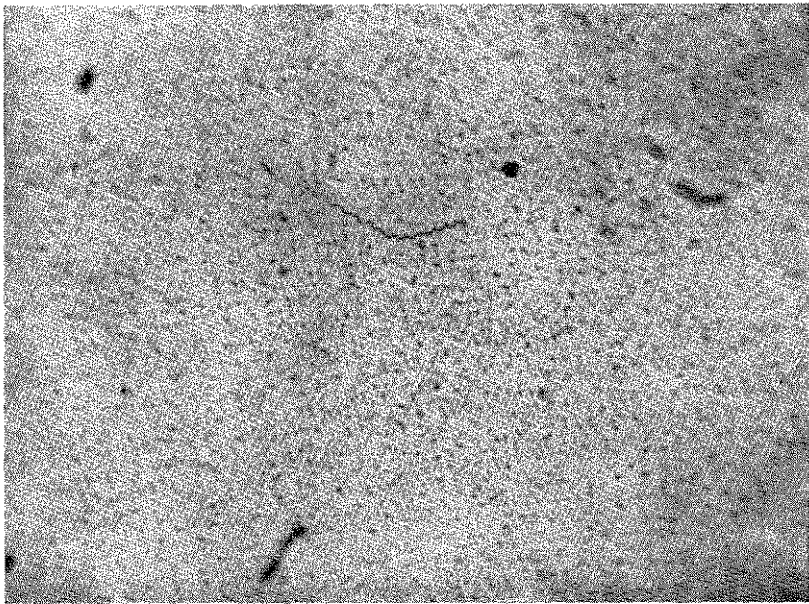


Fig. 2 — Outro aspecto de *T. pallidum* corado como o da figura 1.

## ANERGIA NA LEISHMANIOSE CUTÂNEO-MUCOSA AMERICANA, CAUSADA PELA SÍFILIS

por

LUÍS DE SALLES GOMES

*Diretor da Diretoria de Microbiologia e  
Diagnóstico do Instituto Adolfo Lutz*

As reações intradérmicas de Frei negativas, em casos clinicamente evidentes de linfogranulomatose de Nicolas-Favre, chamaram logo a atenção de numerosos pesquisadores e, desde então, vários trabalhos sobre o assunto foram publicados, visando esclarecer as razões dessa falta de resposta alérgica da pele à inoculação do antígeno específico.

A sífilis foi, então, entre outras moléstias, particularmente incriminada de ser uma das causas da anergia poradênica.

Essa ação anergizante da sífilis capaz de, pela concorrência antigênica, tornar anérgico um organismo que deveria estar em franco estado de alergia, não foi, porém, até agora, mencionada por nenhum pesquisador como existente, também, na leishmaniose cutâneo-mucosa americana.

O fato merece ser ressaltado, por isso que é verificado agora numa moléstia endêmica largamente disseminada nos países sul-americanos em geral, incluindo-se o Brasil, em alguns de cujos Estados, como o de São Paulo e o do Paraná, os índices de endemicidade são dos mais altos e a prática da intradermo-reação de Montenegro, destinada à diagnose imunológica da moléstia, está, pela excelência dos seus resultados, muito mais difundida.

Assim, apresso-me em dar a conhecer a interessante observação de um doente, clinicamente característico, de leishmaniose cutâneo-mucosa americana, que me foi enviado de zona endêmica, para diagnóstico e tratamento.

Observação: J.F.M., brasileiro, pardo, 36 anos, trabalhador rural, procedente do município de Maringá (Est. do Paraná). A um rápido exame dermatológico, apresentava o doente o seguinte: lesões ulcerosas interessando as asas do nariz e todo o contorno dos tecidos das regiões nasal, genianas, palpebrais inferiores e labial superior. Referiu que havia adquirido aquela moléstia cerca de 4 anos antes, quando residia em Tupã (Est. de São Paulo), onde se ocupava no serviço de derrubadas de florestas para plantações de cafeeiros.

Para confirmação do diagnóstico clínico de leishmaniose, foi feita a intradermo-reação de Montenegro.

Contrariando, porém, a expectativa, o resultado desse teste, repetido mais duas vezes, foi absolutamente negativo. Note-se que, nas repetições, foram usadas partidas diferentes de antígenos. (Ver, na figura n.º 1, as lesões da face e o teste intradérmico negativo no antebraço direito).

Após retirada da crosta de uma das lesões do bordo da asa do nariz, foi colhido com cureta, um pouco de tecido da ulceração, cujos esfregaços, após coloração pelo Leishman, resultaram positivos para leishmânias.

Ante o resultado imprevisto da prova, ocorreu-me perquirir se o caso presente não seria o de interferência da sífilis mascarando a manifestação alérgica leishmaniótica. Uma ligeira anamnese a respeito da vida venérea progressiva do paciente bastou para se saber que havia ele contraído, cerca de 6 anos antes, no Estado da Bahia, uma lesão venérea classificada como cancro sífilítico e que desapareceu com 4 ou 5 injeções que lhe haviam aplicado. Transferindo-se, logo depois, para o Estado de São Paulo, foi trabalhar nas matas de Tupã, onde lhe apareceram as ulcerações que apresenta na face e que tratava com pomadas e infusões.

As reações sorológicas para lues (r. de Wassermann e de Kahn) foram fortemente positivas (++++).

Durante 45 dias, foi o paciente submetido a injeções bissemanais de iodeto de bismuto (0,20 g em 2 ml de óleo de amendoim) e de "Eparseno" (Rhodia), somando um total de 13 injeções de cada medicamento. Este tratamento visava, ao mesmo tempo, a melhora da sífilis contraída cerca de 6 anos antes e da leishmaniose adquirida posteriormente, isto é, havia mais ou menos 4 anos.

Os resultados desses tratamentos simultâneos foram os seguintes:

- 1.º — melhora sorológica da sífilis, cujas reações de Wassermann e de Kahn caíram para levemente positivas (+);
- 2.º — melhora clínica acentuada das lesões da face e da fortíssima infiltração leishmaniótica que as acompanhava (Ver fig. n.º 2);
- 3.º — intradermo-reação de Montenegro fortemente positiva (++++) com formação de pústula (Ver fig. n.º 2, antebraço esq.).

Estes resultados parecem suficientemente concludentes para se acreditar que seja o presente caso considerado como de anergia leishmaniótica causada pela sífilis, fato de que, até o presente, não se havia sequer cogitado e muito menos ainda comprovado.

Em trabalho que apresentei ao III Congresso Internacional de Microbiologia, publicado em dezembro de 1939, (1) sobre a intradermo-reação para diagnose da leishmaniose americana, reação à qual propuz se ligasse o nome do seu autor — J. Montenegro, tive ocasião de salientar que, de 120 casos clinicamente típicos da moléstia experimentados, quase todos mostraram-se forte ou francamente alérgicos ao antígeno leishmaniótico injetado na pele. Desse total, apenas alguns houve (2,5%) em que a reação foi de intensidade mediana.

Não procurei inteirar-me, então, da história venérea progressiva e dos exames sorológicos para lues dos pacientes leishmanióticos submetidos às provas intradérmicas. A julgar, porém, pela observação que acabo de

expor, é muito possível que, entre os poucos doentes clinicamente típicos de leishmaniose em que a reação se manifestou mais fraca, houvesse alguns sob a influência anergizante da sífilis em quaisquer das suas fases evolutivas.

O próprio MONTENEGRO (2), em seu trabalho fundamental, refere a negatividade da reação em 5 de 37 doentes com diagnóstico clínico de leishmaniose em que experimentou o teste. Desses 5 doentes anérgicos ao antígeno de leishmânias mortas, apenas 1 é mencionado com reação de Wassermann negativa. Sobre os 4 doentes restantes não há informes a respeito de reações sorológicas para sífilis, moléstia esta que poderia, talvez, nesses doentes, coexistir com a leishmaniose.

Dentro desta mesma ordem de idéias, caberiam, também, os 5 casos de leishmaniose microbiologicamente positivos e com reação de Montenegro negativas, porém sem menção de exames sorológicos para sífilis, relatados por PESSOA e PESTANA (3) entre mais de 800 casos experimentados, cujas reações, pela sua positividade, confirmaram o diagnóstico da moléstia; e, finalmente, o mencionado por ARANTES (4) de um doente portador de forma tuberculóide reacional de lepra e de extensas ulcerações microbiologicamente positivas para leishmânias, no qual a intradermo-reação de Montenegro foi várias vezes negativa, bem como a reação de Mitsuda, porém sem nenhum informe sobre as reações sorológicas para sífilis, que, como nos casos anteriores, talvez pudesse explicar as razões da anergia ao antígeno leishmaniótico e quiçá, também, da anergia ao antígeno de Mitsuda, tão sensível aliás nas formas de lepra do tipo tuberculóide.

Com a apresentação deste primeiro caso de anergia na leishmaniose cutâneo-mucosa americana, causada pela sífilis, pode-se afirmar que esta moléstia é, indubitavelmente, uma das razões por que, às vezes, casos clínicos e microbiológicos positivos de leishmaniose cutâneo-mucosa americana não reagem positivamente à intradermo-reação de Montenegro.

Apraz-me chamar a atenção dos pesquisadores que se têm dedicado ao estudo desta reação imunológica, hoje tão difundida entre nós, para a observação que acaba de ser relatada.

Consigno aqui os meus agradecimentos à digna Diretoria Clínica e ao digno Chefe da 4.<sup>a</sup> Enfermaria da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, por terem facultado a internação do doente objeto desta observação.

## RESUMO

Em um caso clinicamente característico e microbiologicamente positivo de leishmaniose cutâneo-mucosa americana da face, foi por mim verificada a absoluta anergia do paciente ao antígeno leishmaniótico com que se pratica a intradermo-reação de Montenegro.

Após ligeira anamnese sobre o passado venéreo do doente, foram feitas as reações sorológicas para sífilis (r. de Wassermann e de Kalín), que resultaram fortemente positivas (++++).

Durante 45 dias foi o paciente submetido a injeções bissemanais de iodeto de bismuto e de "Eparseno", visando, ao mesmo tempo, a melhora

da sífilis contraída cerca de 6 anos antes e da leishmaniose adquirida posteriormente, isto é, havia mais ou menos 4 anos.

Os resultados desses tratamentos simultâneos foram os seguintes:

- 1.º — melhora sorológica da sífilis cujas reações de Wassermann e de Kahn caíram para levemente positivas (+);
- 2.º — melhora clínica acentuada das lesões e da fortíssima infiltração leishmaniótica que as acompanhava;
- 3.º — intradermo-reação de Montenegro fortemente positiva (++++) com formação de pústula.

Tratando-se, indubitavelmente, de caso inédito de anergia leishmaniótica causada pela sífilis, chamo para êle a atenção dos pesquisadores, salientando que a sífilis é, certamente, uma das causas anergizantes da leishmaniose e uma das razões por que, às vezes, casos clínicos e microbiológicos positivos de leishmaniose cutâneo-mucosa americana não reagem positivamente à intradermo-reação de Montenegro.

#### SUMMARY

##### ANERGY ON MUCO-CUTANEOUS AMERICAN LEISHMANIOSIS, PROVOKED BY SYPHILIS

The author gives an account of the first known case of anergy on mucocutaneous American leishmaniosis, provoked by syphilis.

The patient had both ulceration and infiltration of the face clinically characteristic of leishmaniosis and positive leishmania smears.

Montenegro's intradermic test (killed leishmania cultures employed as antigens) was several times negative.

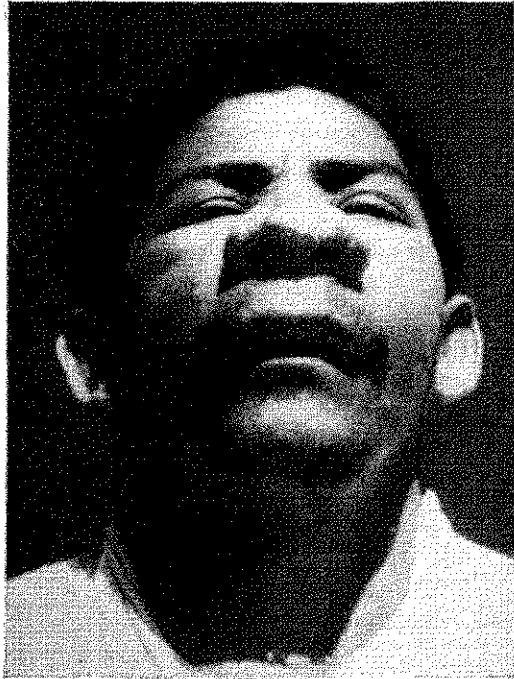
Previously the patient had contracted syphilis which was improperly treated. His Wassermann and Kahn tests were strongly positive (++++) when he came under our care.

After 45 days of simultaneous treatment against both diseases by bismuth iodide and "Eparsono" (Rhodia), the following evolution was observed: the leishmania lesions were greatly improved and Montenegro's test became strongly positive (++++) while tests for syphilis on blood serum were only slightly positive (+).

This observation is particularly interesting for those cases, undoubtedly rare, which have clinical and microbiological positive diagnosis for leishmaniosis but which have immunological negative tests (Montenegro's intradermic test).

This observation throws light on the fact brought out by some observers, that intradermic tests for leishmaniosis, occasionally, are negative in clinical and microbiologically positive cases of American mucocutaneous leishmaniosis.

Leishmaniose cutâneo-mucosa  
americana.



Muco-cutaneous american  
leishmaniasis.



Intradermo-reação de  
Montenegro: negativa.

Nota: R. de Wassermann e de  
Kahn no sêro sanguíneo:  
++++

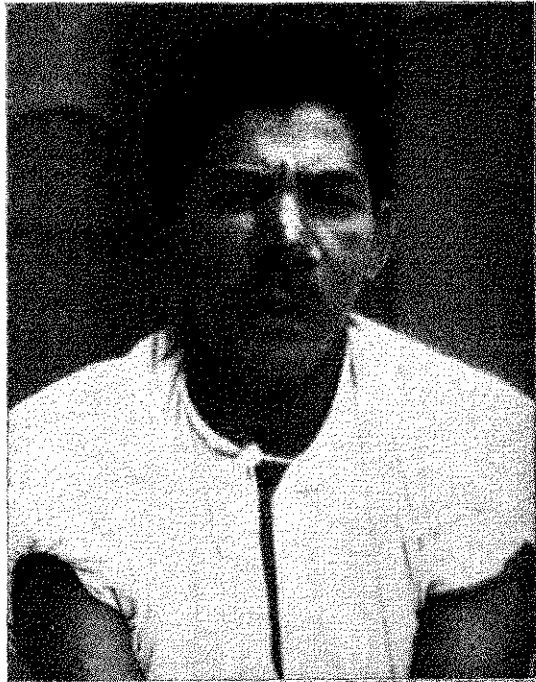
Montenegro's intradermic  
test : Negative.

Note -- Wasserman and Kahn  
blood tests: +++++

Figura 1

O mesmo caso depois de 45 dias de tratamento com injeções de iodeto de bismuto (sífilis) e de "Eparseno" — Rhodia (Leishmaniose).

The same case after 45 days treatment with injections of bismuth iodide for syphilis and "Eparseno" — Rhodia for leishmaniosis.



Intradermo-reação de Montenegro: ++++

Nota — R. de Wassermann e de Kahn ou soro sanguíneo: +

Montenegro's intradermic test: ++++

Note - Wassermann and Kahn blood tests: +

Figura 2

## BIBLIOGRAFIA

- (1) GOMES, L. DE SALLES — 1939 — A intradermo-reacção de Montenegro na leishmaniose e outras pesquisas<sup>1</sup> afins. *Brasil Médico* 53 (49): 1079-1087.
- (2) MONTENEGRO, J. — 1926 — A cútis-reacção na leishmaniose. *Ann. Fac. Med. S. Paulo* 1: 323-330 e *Arch. Dermat. Syph.* 13: 187-194.
- (3) PESSÔA, S. B. e B. R. PESTANA — 1940 — A intradermo-reacção de Montenegro nas campanhas sanitárias contra a leishmaniose. *S. Paulo Médico* 13, 2(5/6): 133-151.
- (4) ARANTES, S. C. — 1941 — A intradermo-reacção de Montenegro na lepra. *Folha Médica* 22: 63-66.





## SÔBRE A SEMELHANÇA DOS ÓLEOS DE PATAUÁ E DE OLIVA — SUA DIFERENCIAÇÃO

por

MARIA ELISA WOHLERS DE ALMEIDA

*Químico do Instituto Adolfo Lutz*

O óleo de patauá é extraído dos frutos da palmeira patauá (*Oenocarpus batava*, Mart.) originária da região amazônica. Esta palmeira cresce de preferência nas florestas úmidas das margens do rio Amazonas e, muitas vezes, se encontra agrupada formando os patauazais. Ela floresce, também, em grande quantidade, no Estado do Maranhão. Os frutos, segundo descrição de PESCE (1941), são de cor roxo-escura, pequenos, medindo, aproximadamente 2,5 cm de diâmetro por 3 a 4 cm de comprimento e se encontram reunidos em grandes cachos. A polpa oleosa é amarela, mole, contendo de 18 a 24% de óleo. A industrialização do óleo de patauá ainda está em fase rudimentar, de maneira que o seu rendimento é muito baixo, a sua produção é irregular e nem sempre o óleo é de muito boa qualidade. Entretanto, se encontra, há vários anos, no comércio de Belém do Pará, sendo, porém, de consumo praticamente local. Em São Paulo e no Rio de Janeiro, também existe um produto constituído de uma mistura de óleo de patauá e óleo de amendoim.

O grande interesse que o óleo de patauá desperta entre os pesquisadores, principalmente entre os brasileiros, se baseia no fato de que este óleo se assemelha extraordinariamente ao óleo de oliva.

As primeiras referências que a literatura nos fornece sobre o óleo de patauá se reportam a 1910, com dados analíticos fornecidos por GRIMME (1910).

BOLTON e HEWER (1917) já ressaltam que as características do óleo de patauá e do óleo de oliva são marcadamente semelhantes e ainda afirmam ser o óleo de patauá um excelente óleo comestível.

CERQUEIRA (1927) realiza um estudo analítico sobre o óleo de patauá, sempre salientando a sua semelhança com o óleo de oliva.

BERTINO DE CARVALHO (1929) divulga as excelentes qualidades do óleo de patauá e também apresenta dados analíticos.

FREISE (1929) publica um estudo sobre plantas oleaginosas do Brasil, pouco conhecidas, estando entre elas a palmeira patauá. Fornece resultados da análise do óleo e também afirma que este se assemelha ao óleo de oliva.

---

Trabalho apresentado à IV Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, realizada em Porto Alegre, novembro de 1952 e entregue para publicação em 12 de agosto.

JAMIESON e MCKINNEY (1934) determinam a composição química dos ácidos graxos componentes do óleo de patauá e também neste ponto verificam a semelhança de constituição entre o óleo de patauá e o óleo de oliva.

Reunimos, na Tabela 1, os dados referentes aos ácidos graxos do óleo de patauá, fornecidos por JAMIESON e MCKINNEY (1934), CHAVES e PECHNIK (1947) e PEREIRA PINTO (1951), juntamente com dados análogos do óleo de oliva coletados em JAMIESON (1943) e HILDITCH (1941).

TABELA 1

	PATAUÁ			OLIVA	
	Jamieson e McKinney	Chaves e Pechnik	Pereira Pinto	Jamieson	Hilditch
Ácido esteárico (%) .....	5,6	6	8,8	1,4- 2,4	1- 3,3
Ácido palmítico (%) .....	8,8	6	7,1	6,9-14,4	7-19,7
Ácido oléico (%) .....	76,5	79,2	72,9	69,1-84,4	67,6-85,8
Ácido linoléico (%) .....	3,4	8,8	5,2	3,9-12,0	4-13,7

SILVEIRA (1941) apresenta um novo dado analítico do óleo de patauá (índice de Bellier) que também coincide com o do óleo de oliva.

Com esta enumeração de estudos sobre o óleo de patauá, fica evidenciada a grande semelhança entre o óleo nacional e o óleo de oliva, tanto nos seus caracteres organolépticos, como na sua constituição química e constantes físico-químicas.

Desta semelhança de dados analíticos, surge um problema que preocupa principalmente aos bromatologistas: como distingui-lo do óleo de oliva. Sabemos que, durante a última guerra, muito óleo de patauá foi vendido e consumido como óleo de oliva, principalmente em mistura com outros óleos comestíveis. Este assunto já foi apresentado por LACERDA (1941), BERNSTEIN (1949) e PEREIRA PINTO (1951).

BOLTON (1928) já observa que "será necessário achar um meio de poder estabelecer a diferença entre os dois óleos, para evitar as falsificações, visto que os usos que se podem fazer do óleo de patauá, são os mesmos do de oliveira".

CHAVES e PECHNIK (1947), que efetuaram um estudo sobre a constituição química do óleo de patauá, também afirmam: "As constantes físicas e químicas do óleo de patauá e de oliva são de tal modo semelhantes que se torna impossível uma diferenciação pela análise química corrente".

Da mesma forma que muitos analistas, há tempos vínhamos tentando uma diferenciação entre os dois óleos. Dentre as várias técnicas experimentadas, empregamos o método da dosagem do esqualeno. Esta determinação é feita no filtrado cromatográfico do extrato etéreo da parte insaponificável do óleo, segundo FITELSON (1943).

A quantidade de esqualeno encontrada no óleo de patauá é insignificante, variando de 6 a 17 mg por 100 g de óleo, ao passo que o teor de esqualeno em óleos de oliva é muito mais elevado, sendo a média, por nós obtida, igual a 483 mg por 100 g de óleo.

Encontramos, enfim, com a ajuda dêste processo, um precioso e definitivo elemento de diferenciação entre os dois óleos.

#### PARTE EXPERIMENTAL

Trabalhamos com 8 amostras de óleo de patauá. A cor dêstes óleos variava do amarelo claro ao amarelo escuro e o gosto e sabor eram semelhantes aos do óleo de oliva. Determinamos, em seguida, os índices de refração, de saponificação e de iodo, os pontos de fusão e de solidificação dos ácidos gordurosos, o índice de Bellier e dosamos o esqualeno, segundo as técnicas adotadas pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1951). Os resultados destas 8 análises se acham agrupados na Tabela 2.

Para comparar os dados analíticos dos óleos de patauá com os de o iva apresentamos, na Tabela 3, os valores máximos, mínimos e médios encontrados, juntamente com os máximos e mínimos de óleos de oliva analisado, pelo Instituto Adolfo Lutz.

Observando os resultados, vemos que, pelos dados analíticos comumente usados para caracterização de um óleo, não se pode diferenciar o óleo de patauá do óleo de oliva. Apenas a quantidade de esqualeno nêles contida é que marca rigidamente uma distinção entre os dois óleos.

A nossa atenção também se voltou para o problema da adulteração do óleo de oliva, por meio da adição de óleo de patauá. Para isso, preparamos três misturas de óleo de oliva com óleo de patauá, variando os óleos em cada mistura.

Naturalmente, os caracteres organolépticos destas misturas se mostraram próprios dos de óleo de oliva. Os resultados analíticos se acham reunidos na Tabela 4.

Com exceção da dosagem do esqualeno, vemos que tais misturas podem ser tomadas como óleo de oliva, pois os resultados analíticos se enquadram, perfeitamente, dentro dos padrões estabelecidos para óleo de oliva puro. A única indicação de fraude é dada pela quantidade baixa de esqualeno.

Reunimos, em seguida, na Tabela 5, os resultados das dosagens de esqualeno, por nós realizadas, em 60 óleos de oliva recebidos para análise pelo Instituto Adolfo Lutz.

De acôrdo com as nossas determinações, o valor máximo encontrado foi 635, o mínimo 300, a média 483 e o desvio padrão  $\pm 96$ .

Comparando tais resultados com os obtidos nas misturas de óleo de oliva com óleo de patauá, vemos que os valores dêstes últimos se acham bem afastados do mínimo encontrado nas determinações de esqualeno em óleos de oliva.

Temos aqui que considerar, no caso de uma falsificação de óleo de oliva por adição de óleo de patauá, a hipótese de se empregar um óleo de

TABELA 2

Dados analíticos de oito amostras de óleo de pataú

AMOSTRA N.º	1	2	3	4	5	6	7	8
Índice de refração a 40°C .....	1,4609	1,4610	1,4612	1,4610	1,4608	1,4613	1,4613	1,4605
Grau de refração Zeiss-Wolny .....	52,3°	52,5°	52,8°	52,5°	52,2°	53,0°	53,0°	51,7°
Índice de saponificação .....	192,2	191,1	191,4	193,9	191,5	194,9	198,9	194,6
Índice de iodo (Hübl) .....	81,8	82,5	82,0	82,7	76,2	75,7	75,5	77,2
P. S. dos ácidos gordurosos (Título) .....	22,1°	20,9°	22,0°	21,0°	22,0°	21,8°	21,3°	23,2°
P. F. dos ácidos gordurosos .....	29,0°	26,5°	28,5°	28,0°	29,3°	29,2°	27,7°	30,8°
Índice de Bellier .....	13,3°	13,4°	13,6°	14,5°	13,7°	14,2°	13,2°	15,2°
Esqualeno .....	11	10	11	15	17	16	6	6

TABELA 3

Comparação entre dados analíticos dos óleos de patauí e de oliva

	PATAUÁ			OLIVA	
	Máximo	Mínimo	Média	Máximo	Mínimo
Índice de refração a 40°C .....	1,4613	1,4605	1,4610	1,4618	1,4603
Grau de refração Zeiss-Wolny .....	53,0°	51,7°	52,5°	53,7°	51,0°
Índice de saponificação .....	198,9	191,1	193,5	197,4	188,3
Índice de iodo (Hübl) .....	82,7	75,5	79,2	89,4	75,9
P. S. dos ácidos gordurosos (Título) .....	23,2°	20,9°	21,8°	26,9°	19,4°
P. F. dos ácidos gordurosos .....	30,8°	26,5°	28,6°	33,1°	25,1°
Índice de Bellier .....	15,2°	13,2°	13,9°	19,5°	12,5°
Esqualeno .....	17	6	11	635	300

TABELA 4

Dados analíticos de óleos de patauá, oliva e de suas misturas

	OLIVA			PATAUÁ			MISTURAS		
	1	2	3	1	2	3	O <sub>1</sub> -25% P <sub>1</sub> -75%	O <sub>2</sub> -50% P <sub>2</sub> -50%	O <sub>3</sub> -50% P <sub>3</sub> -50%
Índice de refração a 40°C .....	1,4618	1,4615	1,4610	1,4613	1,4610	1,4612	1,4615	1,4612	1,4610
Grau de refração Zeiss-Wolny .....	53,7°	53,3°	52,5°	53,0°	52,5°	52,8°	53,3°	52,8°	52,5°
Índice de saponificação .....	189,7	196,7	189,5	198,9	191,1	191,4	190,0	192,2	190,5
Índice de iôdo (Hübl).....	80,2	85,3	82,2	75,5	82,5	82,0	79,7	83,3	82,5
P. S. dos ácidos gordurosos (Título).....	20,3°	26,0°	21,9°	21,3°	22,1°	22,0°	20,6°	23,7°	21,9°
P. F. dos ácidos gordurosos .....	25,1°	32,0°	26,8°	27,6°	29,0°	28,5°	27,1°	30,8°	28,2°
Índice de Bellier .....	14,6°	14,9°	13,6°	13,2°	13,4°	13,6°	14,3°	14,2°	13,4°
Esqualeno.....	534	310	419	6	10	11	139	157	219

T A B E L A 5

Esqualeno em óleos de oliva \*

Amostra n.º	mg de esqualeno por 100 g de óleo	Amostra n.º	mg de esqualeno por 100 g de óleo
1	444	31	561
2	575	32	473
3	460	33	504
4	559	34	338
5	504	35	468
6	554	36	569
7	468	37	310
8	492	38	614
9	587	39	557
10	340	40	623
11	400	41	534
12	540	42	401
13	400	43	457
14	536	44	582
15	614	45	540
16	567	46	301
17	559	47	479
18	443	48	560
19	430	49	338
20	518	50	431
21	367	51	613
22	309	52	448
23	615	53	496
24	544	54	559
25	440	55	300
26	621	56	310
27	412	57	411
28	378	58	420
29	591	59	351
30	635	60	545
Máx. 635	Mín. 300	Média 483	
Desvio padrão $\pm$ 96			

oliva com um teor elevado de esqualeno ou pequenas quantidades de óleo de patauá. Nestas condições, a quantidade de esqualeno encontrada cairá dentro dos limites atribuídos ao óleo de oliva e o óleo falsificado será considerado como tendo um teor baixo de esqualeno. Neste caso, nem a dosagem do esqualeno resolverá o problema.

## RESUMO E CONCLUSÕES

O óleo de patauá é um excelente óleo comestível, de sabor e gosto agradáveis e de muito boa digestibilidade, indicada pela alta porcentagem de ácido oléico.

\* Análises realizadas no Instituto Adolfo Lutz.



É notável a semelhança entre o óleo de patauá e o óleo de oliva, tanto nas suas propriedades organolépticas como na sua composição química e constantes físico-químicas.

Até há pouco não havia possibilidade de distinção entre um óleo e outro, tal a coincidência de dados analíticos.

Foi a dosagem do esqualeno — hidrocarboneto insaturado, componente da parte insaponificável do óleo — que veio permitir a diferenciação entre os dois óleos.

As determinações de esqualeno efetuadas em óleos de patauá e de oliva revelaram sempre um teor alto de esqualeno nos óleos de oliva e muito baixo nos de patauá.

Foram também preparadas misturas de óleos de oliva e de patauá. O resultado analítico destas misturas, com exceção do teor de esqualeno, demonstrou que elas poderiam ser tomadas como óleo de oliva puro. Fica, assim, salientado o valor da dosagem do esqualeno para verificação de possíveis falsificações de óleo de oliva por adição de óleo de patauá.

Apesar de vários pesquisadores já terem chamado a atenção do governo, de industriais e capitalistas sobre as excelentes características do óleo de patauá, a sua exploração ainda está no início, numa fase quase primitiva. As suas ótimas qualidades precisam ser amplamente divulgadas e sua industrialização intensificada e racionalizada. Só assim poderíamos contar com um óleo essencialmente brasileiro, comparável aos melhores óleos de oliva, sendo que sua produção em larga escala viria contribuir para a economia de divisas e emancipação nacional neste setor.

## S U M M A R Y

“Patauá” oil, extracted from the palm's fruit *Oenocarpus bataua*, Mart., is an excellent edible oil, with agreeable taste and odor, and a very good digestibility.

This oil has a striking resemblance to olive oil, both in its organoleptic properties as in its characteristics and chemical composition.

Until lately, there was no possibility of establishing any difference between olive oil and “patauá” oil.

Now, by the squalene determination, the distinction of these oils has become possible.

Eight samples of “patauá” oil were analyzed (Table 2) and it was observed that their characteristic properties are similar to those of olive oil, except for the squalene content (Table 3).

The squalene determination was performed on 60 samples of olive oil and the results (Table 5) show that the squalene content is very high (max. 635, min. 300 mg/100 g) whereas in “patauá” oil almost no squalene could be found (max. 17, min. 6).

Mixtures of both oils were prepared and analysed. The characteristic properties, exception for the squalene content, showed that such mixtures could be taken for pure olive oil (Table 4).

## BIBLIOGRAFIA

- BERNSTEIN, R. — 1949 — Em defesa do óleo de patauá. *Rev. Bras. Farm.* **31** : 311-317.
- BOLTON — 1928 — Oils, fats and fatty foods.
- BOLTON e HEWER — 1917 — Brazilian oil seeds. *Analyst* **42** : 35-45.
- CARVALHO, J. BERTINO — 1929 — *Oil and Fat Ind.* **6** : 11. Citado por G. S. Jamieson, *In Vegetable fats and oils*. 2<sup>d</sup> ed., New York, Reinhold, 1943 ; p. 139.
- CERQUEIRA, L. C. — Os óleos de bacaba e de patauá como sucedâneos do azeite de oliva. *Anais do I Congresso Nacional de Óleos*, 1927 ; p. 100-104.
- CHAVES, J. M. e E. PECHNIK — 1947 — Pesquisa sobre a constituição dos óleos de patauá e bacaba. *Arq. Bras. Nutrição* **3** : 7-16.
- FITELSON, J. — 1943 — Detection of olive oil in edible oil mixtures. *J. Assoc. Off. Agr. Chem.* **26** : 499-506.
- FREISE, F. W. — 1929 — Some little known oil plants of Brazil. *Seifensieder Ztg.* **56** : 319-321. Resumo em *Chem. Abstracts*, 1930, **24** : 1238.
- GRIMME — 1910 — *Chem. Rev. Fett Harz Ind.*, p. 233. Citado por G. S. Jamieson, *In Vegetable fats and oils*. 2<sup>d</sup> ed., New York, Reinhold, 1943 ; p. 139.
- HILDITCH, T. P. — The chemical constitution of natural fats. London, Chapman & Hall, 1941.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ — Métodos de análises bromatológicas : Análises químicas. São Paulo, Rev. Tribunais, 1951.
- JAMIESON, G. S. — *Vegetable fats and oils*. 2<sup>d</sup> ed., New York, Reinhold, 1943.
- JAMIESON e MCKINNEY — 1934 — Pataua palm oil. *Oil and Soap* **11** : 217-218.
- LACERDA, A. — 1941 — Constantes físicas e químicas de alguns óleos comestíveis do Brasil. *Rev. Soc. Bras. Quím.* **10** : 153-159.
- PESCE, C. — Oleaginosas da Amazônia. Belém, Rev. Veterinária, 1941.
- PINTO, G. PEREIRA — 1951 — O óleo de patauá. *Bol. Tec. Inst. Agron. Norte* **23** : 67-77.
- SILVEIRA, L. — 1941 — Do índice de Bellier dos óleos comestíveis brasileiros. *Rev. Soc. Bras. Quím.* **10** : 146-152.

•

# DITYLENCHUS DESTRUCTOR

EM

## TUBÉRCULO-SEMENTE IMPORTADO DA HOLANDA

por

JAIR CORRÊA DE CARVALHO

*Engenheiro agrônomo do Instituto Biológico,  
em comissão no Instituto Adolfo Lutz*

### INTRODUÇÃO

De recente importação de uma partida de 3.000 caixas de batatinha para semente, procedente da Holanda, foi retirado, pelo Serviço de Vigilância do Ministério da Agricultura, um tubérculo suspeito de ser portador de um parasita dos mais graves para a cultura da batatinha, ou seja *Heterodera rostochiensis*, o "golden nematode" dos norte-americanos.

Esse tubérculo foi trazido ao Instituto Adolfo Lutz por um técnico do Instituto Biológico, para pesquisa e identificação dos nematóides possivelmente existentes.

Um exame superficial revelou, à primeira vista, algumas áreas levemente enegrecidas, possivelmente com podridão inicial; mas como se suspeitava de *Heterodera* e este parasita não concorre para o apodrecimento do tubérculo, deixamos para segundo plano o estudo dessas áreas escuras, iniciando imediatamente, com o auxílio de uma espátula, a coleta do pouco de terra ainda existente no fundo das gemas, para a pesquisa de larvas e talvez de algum cisto que tivesse resistido às lavagens pelas quais teria passado o tubérculo para o exame parasitológico. Uma vez colocado o material retirado do tubérculo em lâminas e levadas estas ao microscópio, vimos logo a presença de muitos nematóides vivos da família *Tylenchidae* e outros dos gêneros *Cephalobus* e *Rhabditis*, mas não observamos larvas de *Heterodera* nem cistos. Novas lâminas preparadas revelaram outras tantas larvas e fêmeas da família *Tylenchidae*.

Examinadas, então, cuidadosamente, as fêmeas *Tylenchidae* concluímos de tratar-se de espécimes do gênero *Ditylenchus*. Este gênero possui, entre suas numerosas espécies, quase tôdas vivendo como parasitas de plantas, duas que merecem maior interesse do parasitologista. A primeira — *Ditylenchus dipsaci* — parasita de muitas plantas de valor econômico e a segunda. — *D. destructor* — espécie, até há pouco considerada variedade de *D. dipsaci*, parasita do tubérculo da batatinha.

## HISTÓRICO

Desde 1857, já era conhecido na Alemanha, descoberto por Khün, um nematóide que ataca haste e bulbo de muitas plantas e que recebeu o nome de *Anguillula dipsaci*, depois mudado, pelo próprio autor, em 1868, para *Anguillula devastatrix*. Tal mudança, porém, não foi bem aceita, em virtude das leis de nomenclatura internacional. Contudo, em virtude dessas mesmas leis, recebeu o nematóide outros nomes, tais como *Tylenchus dipsaci*, depois *Anguillulina dipsaci* e, finalmente, *Ditylenchus dipsaci* (Khün, 1857) Filipjev, 1936.

A fim de evitar confusão em tôrno dêsse parasita, cujos danos às plantações são enormes, devemos esclarecer ainda que outros autores, inclusive Khün, acharam-no em outras plantas, originando, daí, diferentes nomes para o mesmo nematóide. Assim, o proprio KHÜN (1887), encontrando-o em cebola, provocando podridão do bulbo, deu-lhe o nome de *Tylenchus putrefaciens* e em alfafa, *T. havensteinii* (1881). BEIJERINCK (1883) chamou o mesmo nematóide, parasitando cebola, *T. allii*. PRILLIEUX (1881) deu-lhe o nome de *T. hyacinthi* ao encontrá-lo em jacinto, e finalmente NITSCHKE (1868), observando o nematóide em centeio, deu-lhe o nome de *T. secalis*.

As observações dos diversos autores sôbre o comportamento dêste parasita coincidiram em notar certa diferença na maneira de atacar os seus hospedeiros e foi, certamente, essa observação que os levou a acreditar em duas formas do parasita, uma atacando sômente os tubérculos e outra não só os tubérculos mas também a haste e as fôlhas. Dando prosseguimento a êsses estudos, chegaram a concluir alguns pesquisadores da Europa e da América do Norte que a forma que ataca a haste e as fôlhas da batatinha pode ser transferida para outros hospedeiros de diferentes famílias, ao passo que a forma que ataca só os tubérculos não tem capacidade de adaptar-se a outras plantas e nem mesmo a outras partes da própria batatinha. Com efeito, podemos observar, na literatura, os fatos seguintes: KHÜN (1888) descobriu tubérculos de batatinha na região de Hale, Alemanha, apodrecidos pelo ataque de *D. dipsaci*, mas não fez nenhuma referência sôbre a presença do parasita na haste e nas fôlhas. Nesse mesmo ano, na Holanda, na província de Groningen, RITZEMA BOS (1891) observou uma doença dos tubérculos da batatinha, semelhante à descrita por Khün, porém, neste caso, não só os tubérculos eram parasitados, mas também a haste e as fôlhas, exibindo um quadro sintomatológico onde predominavam o enrugamento das fôlhas, a entumescência da haste e outras más conformações.

Mais recentemente, outros pesquisadores europeus observaram diferenças no ataque de *D. dipsaci* à batatinha. Certa população do parasita penetra sômente os tubérculos, fato êsse bem verificado por WOLLENWEBER (1921), GOODEY (1923), EDWARD (1936) e outros. Outra forma ataca não só os tubérculos mas também a haste e as fôlhas, como bem observou QUANGER (1927), na Holanda. Êste mesmo autor achou que a forma de *D. dipsaci* que ataca os tubérculos, as fôlhas e a haste pode ser transferida para mais de 50 hospedeiros e, por isso mesmo, expressou o seu ponto de vista de que esta forma de *Ditylenchus* talvez não fôsse idêntica àquela que só ataca os tubérculos.

Tal ponto de vista foi inteiramente confirmado em recente estudo de THORNE (1945), no qual o nematóide que só ataca o tubérculo foi classificado, recebendo o nome de *Ditylenchus destructor* Thorne, 1945, vulgarmente conhecido, nos Estados Unidos e Canadá, pelo nome de "the potato rot nematode". Observou também Thorne, em Idaho, que a planta dente de leão, *Taraxacum officinale* Weber, muito comum naquela região e também entre nós, em São Paulo, é um hospedeiro desse parasita, enquanto que, na Europa, nenhuma planta tem sido mencionada como hospedeiro, além da batatinha.

### IDENTIFICAÇÃO

#### DA ESPÉCIE DE *DITYLENCHUS* DA BATATINHA IMPORTADA

Examinamos as lâminas do material retirado da batatinha e depois de feitas as medições das fêmeas e desenhado a sua cabeça com grande aumento e o corpo todo com menor aumento, fizemos observações cuidadosas da constituição morfológica dos parasitas estudados, anotando, detalhadamente, os caracteres diferenciais que os afastam das espécies afins. Com esses dados, passamos a descrever as fêmeas encontradas na batatinha importada da Holanda. De um macho encontrado só pudemos desenhá-lo o fim da cauda, devido às péssimas condições da parte dianteira (Fig. 1-e).

Comprimento : 0,997 a 1,299 mm ; largura : 0,026 a 0,036 ;  
a=34-38 ; b=8-9 ; c=16-19 ; V=80-82.

Thorne dá-lhe as seguintes medidas :

Fêmea : Comprimento — 0,8-1,4 mm ; a=30-35 ; b=8-10 ; c=15-20 ; V<sup>65</sup> 78-83<sup>10</sup>.

Macho : Comprimento — 0,8-1,3 mm ; a=34-40 ; b=7-8 ; c=12-16 ; T 73-80.

Corpo delgado, cutícula estriada transversalmente, visível só na base do pescoço ; cabeça levemente proeminente, anfidios não perceptíveis ; campos laterais compostos de 5 faixas, limitadas por 6 estrias longitudinais (1). Estilete bucal com cerca de 9 micra de comprimento e provido, como em *Heterodera* e *Meloidogyne*, de entumescências basais ; o esôfago é composto de um bulbo médio e de outro terminal. O bulbo médio é um tanto alongado ou fusiforme (não estritamente esférico ou oval), o bulbo terminal é de natureza glandular, largo e de forma irregular, estendendo-se dorsalmente sobre a parte final anterior do intestino. Poro excretor no começo do bulbo posterior do esôfago. Ovário simples, sem encurvamento, estendendo-se até pouco além da base do esôfago posterior. Vulva proeminente ; saco uterino post-vulvar largo e ocupando cerca de 2/3 do comprimento da vulva ao ânus. Reto e abertura anal pouco distintos.

(1) Thorne sugere incisuras em vez de estrias.

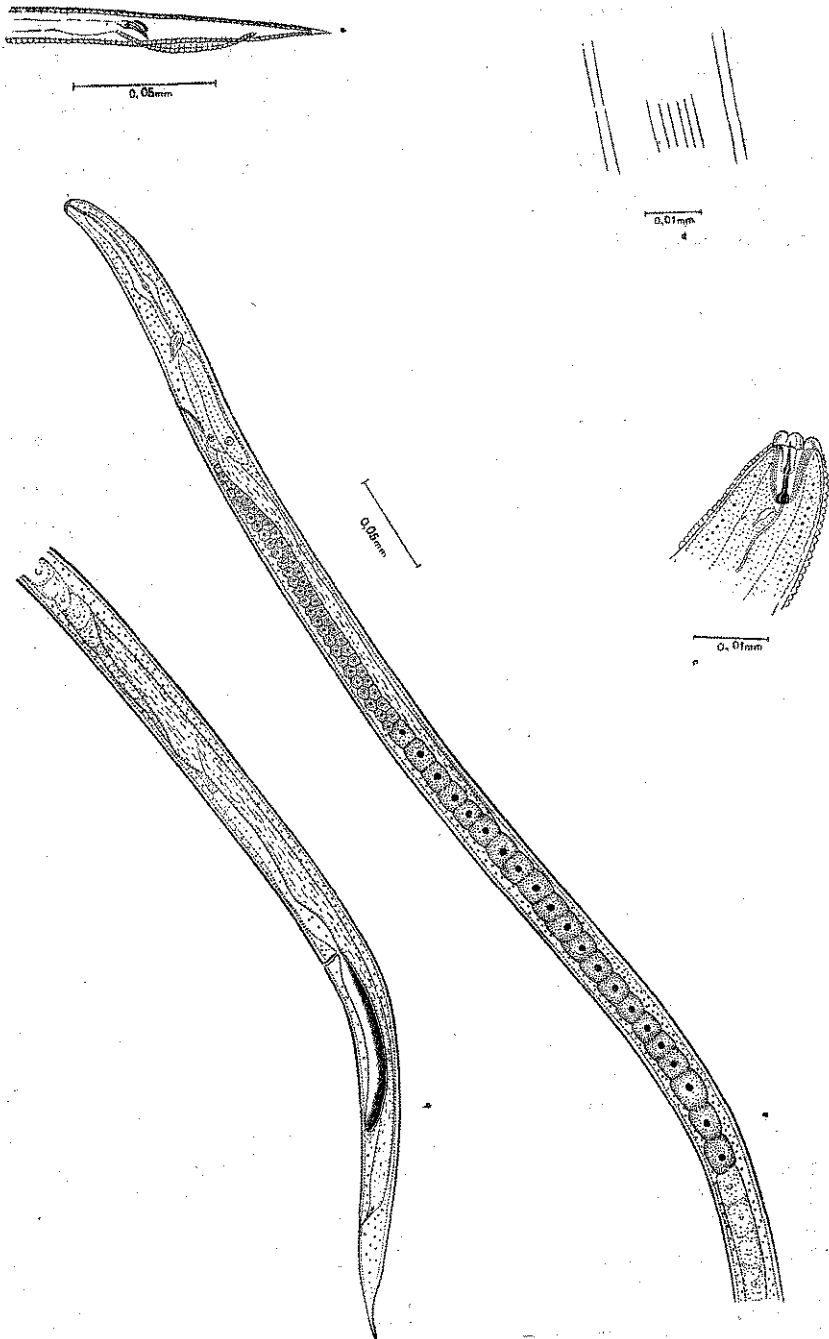


Fig. 1. *Ditylenchus destructor*: a, parte anterior da fêmea; b, parte posterior da fêmea; c, cabeça da fêmea; d, vista do setor lateral da cutícula, mostrando as 5 faixas; e, cauda do macho.

Cauda cônica, alongada, com ponta fina. Fasmídios não observados (Fig. 1, a, b, c).

Pela descrição, seríamos levados à conclusão de que o nematóide encontrado na batatinha de origem holandesa tanto poderia ser *Ditylenchus destructor* como *D. dipsaci*. Para esta espécie, Thorne deu as medidas:

Fêmea: compr. 1,0-1,3 mm.; a=36-40; b=6,5-7,1; c=14-18; V<sub>60-70</sub> 807.

Macho: compr. 1,0-1,3 mm.; a=37-41; b=6,5-7,3; c=11,5-14,5; T-65-72.

A conformação da cabeça, o comprimento do estilete e a forma do esôfago com bulbo médio fusiforme e o bulbo terminal glandular são característicos comuns a algumas espécies muito próximas de *D. dipsaci*. Contudo, o característico diferencial entre as espécies *D. dipsaci* e *D. destructor* é o número de estrias longitudinais que compõem os campos laterais de cada uma delas. Enquanto que em *D. dipsaci* são observadas 3 faixas, limitadas por 4 estrias longitudinais, em *D. destructor* notam-se 5 faixas, limitadas por 6 estrias, como bem esclareceu Thorne. E, assim, verificando na espécie estudada a presença das 6 estrias longitudinais (Fig. 1-d), não tivemos mais dúvidas de termos à frente a espécie *Ditylenchus destructor*, parasita quase exclusivo do tubérculo da batatinha e responsável pelo seu apodrecimento tanto no solo como armazenado.

#### IMPORTÂNCIA

##### ECONÔMICA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

O nematóide da podridão da batatinha, ou sejam, as formas consideradas como pertencentes a esta espécie ocorrem na Alemanha, Bélgica, Canadá, Dinamarca, Escócia, Espanha, E. Unidos, Finlândia, França, Holanda, Ilhas Canárias, Inglaterra, Itália, Marrocos, Noruega, Polônia, Portugal, Rússia, Suécia. Nos Estados Unidos, o nematóide foi observado pela primeira vez em Aberdeen, Idaho, em 1943, e, no Canadá, em 1945, num campo de sementes da Ilha de Prince Edward.

Na Europa, o parasita é considerado praga grave da batatinha, não só pelos danos causados à produção, como pela facilidade de contaminar os solos ainda livres dele, uma vez que é o próprio tubérculo-semente o agente portador. O nematóide, ao penetrar o tubérculo, torna-se o principal agente do seu apodrecimento e abre as portas para posteriores infecções de fungos e bactérias. As infestações, quando iniciais, escapam ao examinador e esse fato dificulta, sobremaneira, a execução de medidas de controle. WOLLENWEBER (1921) conclui, de suas observações, que a forma que ataca só os tubérculos não prejudica propriamente o crescimento da planta e nem interfere seriamente na diminuição da formação dos seus tubérculos, mas reduz, severamente, a qualidade da colheita. Tubérculos infestados, tendo áreas apodrecidas mais ou menos extensas, não são próprias para a alimentação do homem ou para outros usos. Referindo-se



ainda o mesmo autor à dificuldade de selecionar tubérculos levemente infestados, informou que a mais cuidadosa seleção de tubérculos-sementes, oriundos de solo infestado, não deixa de produzir uma colheita com cerca de 30% de tubérculos doentes. Edwards também chama a atenção dos lavradores para as dificuldades de serem reconhecidos os tubérculos levemente infestados e daí a facilidade de distribuição do parasita para solos não contaminados.

A conservação da batatinha atacada por *D. destructor* em armazém constitui, sempre, uma ameaça de prejuízo total, pois o parasita se espalha muito rapidamente, ocasionando perdas até de 80%, como observou KREIS (1932) e também comprovado por Goodey e Edwards.

#### SINTOMAS DO TUBÉRCULO

A presença do nematóide pode ser pesquisada diretamente no solo ou no tubérculo parasitado. Os sintomas dêste são facilmente confundidos com os de outras doenças, como a sarna (*Actinomyces sp.*) e com a requieima (*Phytophthora sp.*). A superfície do tubérculo infestado apresenta áreas descoradas, escurecidas e deprimidas. Essas áreas, apesar de parecerem pequenas, podem ser maiores; basta que se aperte com o dedo, para se verem delineadas as suas verdadeiras margens. Um tubérculo exibindo manchas deprimidas mostra, ao ser cortado, uma zona farinhenta, seca, branca ou pardacenta sob a casca; podem-se ver, também, pequenas manchas brancas, indicadoras de novo estabelecimento de colônias do nematóide em tecido ainda não infestado. As infestações mais avançadas exibem rachaduras da casca. Mas êsses sintomas externos não são bastantes para caracterizar a presença do nematóide; o exame microscópico é indispensável para comprovar a verdadeira causa da doença e identificar o seu agente entre outros que ocorrem com freqüência, parcialmente parasitas ou invasores secundários.

#### CICLO DE VIDA

Desconhecemos a existência de *D. destructor* entre nós, por falta de estudos a seu respeito, mas achamos que tanto as plantações da seca como a das águas oferecem condições propícias ao aparecimento dêste como de outros nematóides. Em ambas há um grau de humidade e calor favoráveis ao seu desenvolvimento. Possivelmente o apodrecimento de muitos tubérculos de certas zonas batateiras, como São João da Boa Vista, que importa muita semente da Holanda, tenha como causa o ataque de *D. destructor*, mas erroneamente atribuído a outros agentes. A multiplicação do parasita é muito rápida e o seu crescimento se opera em muito pouco tempo, em condições favoráveis. Por isso, podem ser vistas, nos tecidos doentes, tôdas as formas do parasita, desde os ovos até os adultos das sucessivas gerações.

#### MEDIDAS DE CONTRÔLE

Como importamos milhares de caixas de tubérculos-sementes da Holanda e de outros países cujos solos são infestados por *D. destructor*, é indis-

pensável uma vigilância severa para evitar a remessa de partidas de tubérculos portadores de nematóides para solos ainda livres d'êles.

Essas medidas de contróle podem ser reduzidas ao seguinte :

- 1 — Inspeção rigorosa da batatinha importada da Europa ou de outra procedência, que se destine à plantação.
- 2 — Proibição da venda de batatinha infestada para plantio.
- 3 — Batatinha de solos infestados não deverá ser usada para semente.
- 4 — Batatinha com rachaduras ou áreas descoradas não deve ser usada como semente.

Alguns pesquisadores têm aconselhado a rotação de cultura para controlar a doença e, de acôrdo com alguns autores inglêses, em solo infestado não deve ser plantado batatinha pelo menos de 3 a 5 anos. Contudo, Thorne observou o reaparecimento da doença em campo infestado, que fôra cultivado, durante 7 anos, com alfafa e cereais. Acredita êsse autor que a planta dente de leão, único hospedeiro conhecido do parasita, além do tubérculo da batatinha, seja o responsável pela sua permanência no solo por tão longo tempo.

Desinfecção dos tubérculos : a desinfecção dos tubérculos por agentes nematocidas é impraticável em virtude da localização dos parasitas nas camadas internas do tubérculo, onde não pode ser atingido pelos agentes químicos.

## RESUMO

Em tubérculo-semente de origem holandesa, encontrou o autor um nematóide que causa grave prejuízo à cultura da batatinha, tanto na Europa como na América do Norte. Estudando, cuidadosamente, o parasita, chegou à conclusão de que se trata de *Ditylenchus destructor*, espécie até há pouco tempo considerada uma variedade de *D. dipsaci*. O autor observou o característico diferencial das duas espécies, que é o número de estrias que compõem os campos laterais. Em *D. destructor*, vêem-se 6 estrias longitudinais, enquanto, em *D. dipsaci*, vêem-se somente 4 estrias.

Considerando a importância d'êste nematóide, o autor faz ligeiro histórico do aparecimento e distribuição geográfica do parasita na Europa e na América do Norte e termina alertando as autoridades do país, a fim de tomarem mais a sério o problema da importação de sementes, para evitar a entrada, com elas, de parasitas ainda não existentes no país.

## SUMMARY

A serious pest of the potato, so far not yet known as occurring in Brazil, was found in a tuber of a lot of 3.000 boxes imported from Holland. It is *Ditylenchus destructor*, named in U.S.A. "the potato rot nematode" because it causes the decay of the tuber. In a careful study of the internal structure of this nematode the author came to the conclusion that it is *D.*

*destructor*. He observed under oil immersion lens 6 longitudinal striae of the lateral fields of this species, a very good differential characteristic from the species *D. dipsaci*.

The attention of the Plant Quarantine Service is called to the danger arising from the possible occurrence of this parasite among the potato tubers imported from other countries.

## BIBLIOGRAFIA

- BOS, J. RITZEMA — 1891 — L'anguillule de la tige (*Tylenchus devastatrix* Kühn) et les maladies des plantes due à ce nematode. Annotation. *Arch. Teyler* 2-3 : 161-348. Citado por Mc Cubbin, In The potato rot nematode. U. S. Department of Agriculture, 1946.
- EDWARDS, E. E. — 1936 — Investigations on the nematode disease of potatoes caused by *Anguillulina dipsaci*. *J. Helminthology* 14 (1) : 41-60.
- FILIPJEV, I. — 1936 — On the classification of the Tylenchidae. *Proc. Helminthol. Soc. Washington* 3(2) : 80-82.
- GOODEY, T. — 1923 — Eelworm disease of potatoes caused by *Tylenchus dipsaci*. *J. Helminthology* 1 : 197-204.
- KREIS, HANS — 1932 — Beiträge zur kenntnis pflanzenparasitischer Nematoden. *Zeitschr. f. Parasitenkunden* 5 : 184-194. Citado por Mc Cubbin, In The potato rot nematode. U. S. Department of Agriculture, 1946.
- KUHN, J. — 1877 — *Hellesche Zeitung*. Citado por B. G. Chitwood, In *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 7 (1) : 44-51. 1940.
- KÜHN, J. — 1888 — Die Wurmfäule, eine neue Erkrankungsform der Kartoffel. *Zeitschr. f. Spiritus Industrie*. Citado por Mc Cubbin, In The potato rot nematode. U. S. Department of Agriculture, 1946.
- MC CUBBIN, W. A., G. STEINER e outros — 1946 — The potato rot nematode, *Ditylenchus destructor* Thorne. U. S. Department of Agriculture, 1946.
- QUANGER, H. M. — 1927 — Ein aaltjesziekte van de aardappelplant, de aantastingswijze ende herkomst van haar oorzaak, *Tylenchus dipsaci* Kühn. Tijdschrift over Plantenziekten. *Jaargang* 33 : 137-172. Citado por Mc Cubbin, In The potato rot nematode. U. S. Department of Agriculture, 1946.
- THORNE, G. — 1945 — *Ditylenchus destructor* n. sp., the potato rot nematode and *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev, 1936, the teasel nematode (Nematoda; Tylenchidae). *Proc. Helminthol. Soc. Washinton* 12(2) : 27-34.
- WOLLENWEBER, H. W. — 1921 — Tätigkeitsbericht für 1920 in *Mitteil d. Biol. Reichsanstalt*, p. 258-266. Citado por Mc Cubbin, In The potato rot nematode. U. S. Department of Agriculture, 1946.

## MONONCHUS — UM PREDADOR VORAZ

por

J. C. CARVALHO

do Instituto Biológico, em comissão  
no Instituto Adolfo Lutz

Quando as investigações, realizadas há algumas décadas atrás, revelaram o caráter predador das espécies do gênero *Mononchus*, houve, naturalmente, radical mudança do conceito em que eram tidas. Devido ao fato de serem encontradas substâncias vegetais no meio intestinal, e também pela frequência dessas espécies nas proximidades de raízes e na bainha das folhas de plantas suculentas, eram elas vistas como nocivas aos vegetais.

Essa suposição foi, contudo, desfeita pelos estudos posteriores, principalmente pelos trabalhos de COBB, que, evidenciando-lhe o hábito carnívoro, explicou a presença do material vegetal nos intestinos de um *Mononchus*. Devorando a vítima, talvez uma espécie vegetariana como, por exemplo, um *Monhystera*, que se alimenta de algas de cor verde brilhante, é então, visto com tal material, através dos tecidos incolores das paredes intestinais do *Monhystera* e do *Mononchus*. Essa aparência será mais enganosa ainda, quando o corpo do *Monhystera* for parcialmente digerido e ficarem isoladas as partículas vegetais, de digestão mais difícil. A presença dessas partículas nos intestinos do predador, deve ser tomada como acidental e não como prova de que o *Mononchus* se alimenta de plantas.

Comprovado, porém, que as espécies de *Mononchus* nutrem-se de protozoários, de rotíferos e de helmintos, em vez de vegetais, foi antevisto pelos cientistas um novo e valioso auxiliar no combate aos nematóides parasitas das plantas. Infelizmente, porém, as esperanças dos que acreditaram na possibilidade de serem essas espécies utilizadas no combate aos verdadeiros parasitas das plantas, não se concretizaram. Seja pelas dificuldades de serem criadas fora do ambiente próprio, a inadaptabilidade verificada, ou por outro motivo, o fato é que não foi possível utilizá-las, inteligentemente, na defesa de plantas cultivadas. É pena porque acreditamos que, em ambiente propício, deve ser um predador poderoso e voraz, como prova a ocorrência freqüente de nematóides nos intestinos dos espécimes coletados.

A voracidade pode ser comprovada em lâmina, com espécies de *Mononchus* e outras espécies de nematóides, montadas vivas em água e observadas ao microscópio com pequeno aumento, ou a lupa, com maior aumento. Assim montadas, podem ser observados os movimentos rápidos da parte dianteira,

ora para a direita ora para a esquerda, como que buscando algo, que se presume seja a próxima vítima.

Os nematologistas, interessados em conhecer os hábitos alimentares destes nematóides, estudaram a conformação da bôca e dos órgãos digestivos, mas a despeito desses conhecimentos, muito deverá ser ainda pesquisado para esclarecimento de certas particularidades do ciclo do helminto. Vivendo no solo, na escuridão, não se explica como pode dar-se bem em água e com muita luz, como é o caso da montagem neste líquido para exame ao microscópio. E, parece, dão-se tão bem, e até estimulados, que atacam, ferozmente a vítima, quando esta se encontra ao seu alcance.

Desprovidos de órgãos visuais, devem possuir um outro órgão que lhes dê a sensação da vista. Acreditam os pesquisadores que os anfídios, órgãos que ocorrem em quase todos os nematóides de vida livre, localizados dos lados esquerdo e direito da cabeça, como orelhas, sejam órgãos de orientação; mas a estes também já se atribuíram funções de audição e de respiração.

Na procura de alimento, acredita COBB, deve haver luta para dominar a vítima, o que é natural, pois esta tudo fará para fugir às garras do seu perseguidor. Mas este é poderoso, ágil e capaz de ingerir nematóides do tamanho da metade do seu próprio corpo. Nesse esforço apoia-se na cauda, que, em muitas espécies, é munida de três glândulas, e estas, por meio de ductos, comunicam-se com uma ampôla valvulada, por onde secretam pelas glândulas caudais, uma substância coagulante, que cimenta a cauda do nematóide no ponto em que se apoia para a luta, retendo-o em alguns casos, até a morte.

Apresentamos dois espécimes colhidos nesta Capital, que exemplificam os hábitos carnívoros. Um encontrado em plantação de hortaliças, em Campo Limpo, e outro retirado de amostra da terra de um vaso com planta ornamental, trazida pela Srta. Risocea Abrantes Bueno, técnico do Instituto Adolfo Lutz, a quem agradecemos.

*Mononchus (Iotonchus) sp.*

Macho : Comprimento, 3,080 mm ; largura, 0,098 mm ; a = 31,4 ; b = 5,0 ; c = 9,7. Cabeça não destacada do corpo, bôca composta de seis lábios, com um círculo de papilas apicais e outro círculo mais externo. Faringe longa e ampla, com 0,055 mm de comprimento por 0,037 mm de largura ; na parede interna da faringe, notam-se três peças finas, longitudinais, levemente arqueadas, reforçando-a. Músculos da faringe pouco visíveis. No lado dorsal, na parte inferior do setor, bem próximo da base da bôca, há um dente pequeno, não retorcido. Anfídios pouco visíveis. Esôfago longo e musculoso. O anel nervoso está situado a uma distância da base da faringe igual a 1/5 do comprimento total do esôfago. Cárdia composto de células diferenciadas das que compõem o intestino. Este tem aparência externa marchetada, com cerca de 8 a 10 células para a formação da parede em volta do corpo. Testículos duplos e curtos. Ao lado da região terminal do canal deferente existe um grupo de 4 glândulas ejaculadoras, unicelulares, com ductos que se vão abrir na cloaca. Cauda fina e longa, com 3 glândulas, cujos ductos vão ter a uma ampôla munida de válvula. Poderosos músculos atravessam oblíqua-

mente a parede na região anal. Cerca de 18 órgãos suplementares são vistos no lado ventral. Espículos duplos, não encabeçados, finos e não muito longos, acompanhados de gubernáculo estreito. Descrição feita de um só exemplar.

#### MONONCHUS (IOTONCHUS) sp.

Fêmea: Comprimento: 3,525 mm; largura: 0,125 mm; a = 28,2; b = 5,1; c = 10; V = 47,5%. Cabeça não distintamente destacada do corpo, com 6 lábios compondo a boca, cada um deles com uma papila apical e outra externa, formando um segundo círculo de papilas. Faringe ampla, com 0,062 mm de comprimento por 0,052 mm de largura, ocupando cerca de 3/4 da largura da cabeça; do lado dorsal, na parte inferior do setor, quase na parte básica da boca, há um dente pequeno, não retorcido. 3 peças finas, levemente arqueadas, reforçam a parede da faringe. Anfídios pouco visíveis, mas parecendo ter forma de bôlso. Esôfago musculoso, longo, dilatado um pouco nas proximidades da sua interseção com a faringe, termina na região do cárdia sem apresentar qualquer outra dilatação. Anel nervoso situado distante da faringe 1/5 do comprimento total do esôfago. As células que compõem o cárdia são de aparência distinta das dos intestinos. Estas últimas formam uma parede de aparência marchetada, com cerca de 8 a 10 células no seu contorno. Ovário duplo, pequeno, e um tanto encurvado, contendo um ovo em cada um; vulva em posição quase equatorial. Cauda longa e fina, com 3 glândulas localizadas um pouco abaixo do ânus, ligadas por meio de ductos a uma ampôla munida de válvula. Nota-se um par de papilas caudais situadas a 0,070 mm do ânus. Descrição feita de um só exemplar.

#### CONCLUSÕES

De acôrdo com os estudos já realizados por numerosos investigadores e pelas observações do Autor, em muitas espécies de *Mononchus*, parece não haver dúvidas de que elas alimentam-se, quase exclusivamente, de animais de reduzido tamanho, como protozoários, rotíferos e nematóides, inclusive os da sua própria espécie. Nos dois *Mononchus* apresentados, vemos, nos intestinos do macho (Fig. 1), o corpo de um nematóide de regular tamanho, com formas ainda quase intatas. Nos intestinos da fêmea (fig. 2), há três corpos, dois dos quais com aparência de amebas, porém como não nos foi possível ver-lhes a estrutura, não pudemos identificá-los; o terceiro assemelha-se à parte final da cauda de um nematóide.

Infelizmente não possuímos literatura suficiente para a identificação desses *Mononchus*. Por certo, não pertencem às espécies descritas por COBB, pois as duas mais próximas, *M. trichuris* e *M. gymnolaemus* apresentam alguns caracteres diferentes. Para evitar a criação de mais sinônimos, para espécies já descritas por outros autores, preferimos descrevê-las sem indicar a espécie (1).

(1) — Já estava o presente trabalho no prelo, quando recebemos, gentilmente cedido pelo Dr. Luiz Lordello, da Escola Superior "Luís de Queirós", Piracicaba, literatura sobre o assunto; e por ela chegamos a acreditar que os dois espécimes pertencam a uma nova espécie, contudo, somente depois de acurado estudo, poderemos identificá-la.

## SUMMARY

In the study of several kinds of *Mononchus* it was verified that they live on worms and protozoa. In the two specimens found in São Paulo, one in a kitchen-garden, and the other in a pot of an ornamental plant, both of them as examples of its predaceous character, a nematode of regular size was seen in the male bowel. In the female bowel there were found three bodies, two of them looking like amoeba, and the third one resembling a nema tail.

Unfortunately, the author has not a complete literature concerning the *Mononchus* to identify these species.

## BIBLIOGRAFIA

COBB, N. A. *In* Contributions to a Science of Nematology, pag. 129-187, fig. 1-75. Baltimore, Williams & Wilkins Co. 1914-1935.

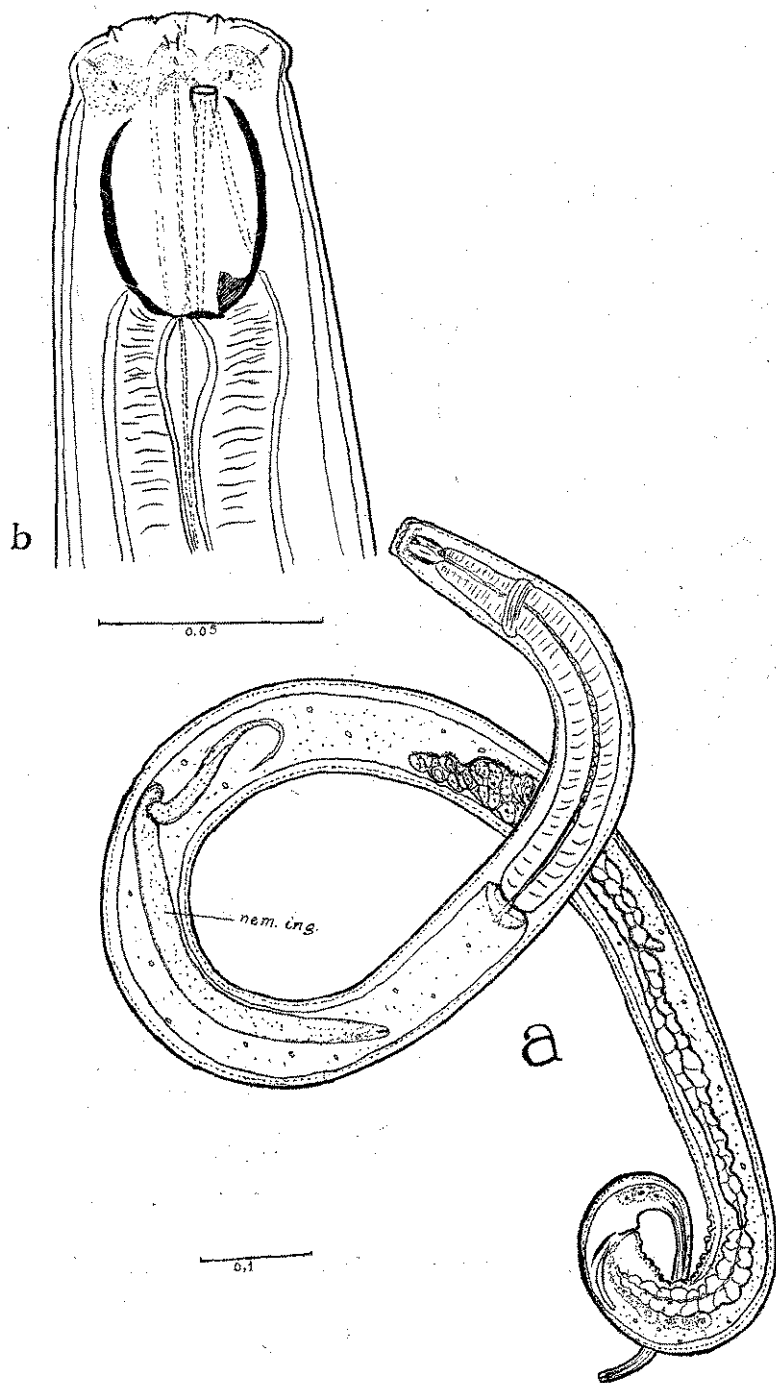
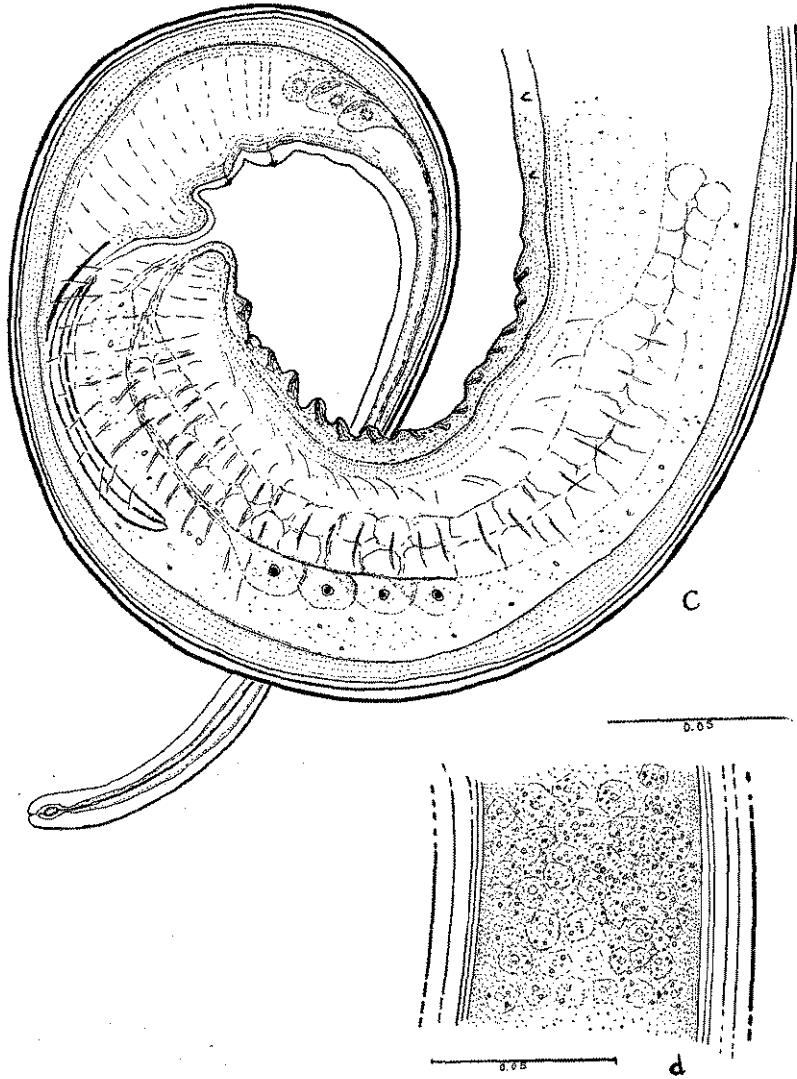


Fig. 1 — *Mononchus* sp. Macho : a, corpo inteiro ; b, cabeça ; nem. ing. = nematóide ingerido.





Continuação da fig. 1: c, cauda ; d, arranjo das células da parede do intestino.

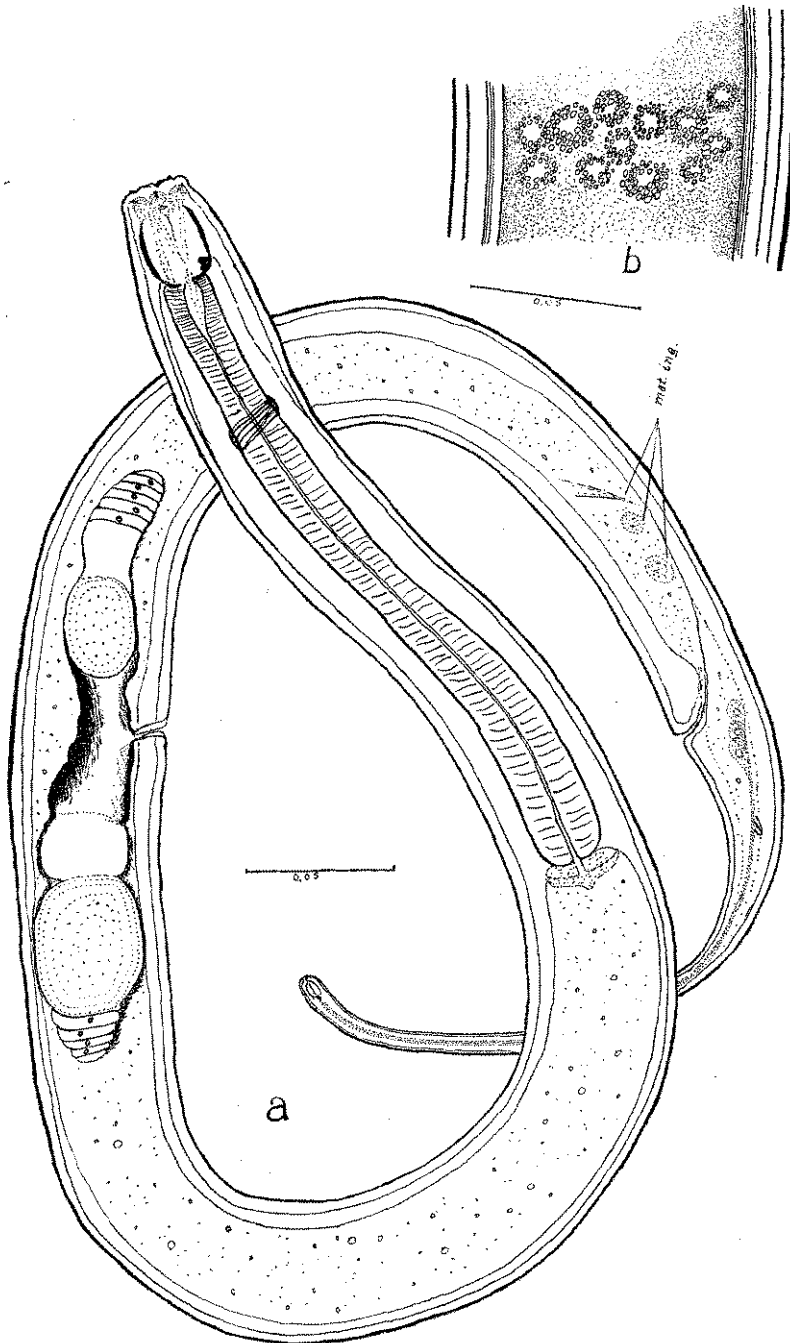


Fig. 2 — *Mononchus* sp. Fêmea : a, corpo inteiro ; b, arranjo das células da parede do intestino ; mat. ing. = material ingerido.



ALGUMAS OBSERVAÇÕES  
SÔBRE A VIDA DO NEMATÓIDE DO VINAGRE —  
*TURBATRIX ACETI*

por

JAIR CORRÊA DE CARVALHO

Engenheiro agrônomo do Instituto Biológico  
em comissão no Instituto Adolfo Lutz

e

JORDANO MANIERO

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

INTRODUÇÃO E HISTÓRICO

Estudando a morfologia de um nematóide encontrado com abundância em massa de tomate, reunimos elementos para concluir que se tratava de *Panagrellus redivivus* (Linn., 1767) Goodey, 1945, espécie comumente encontrada em massas sujeitas à fermentação.

Observada a presença de tão grande número de vermes mortos em tal produto alimentar, que o tornara impróprio para o consumo, ocorreu-nos a possibilidade de distúrbios gástricos determinados pela ingestão de tão grande número de vermes. Uma pesquisa na literatura concernente ao assunto impunha-se, para esclarecer o problema, com observações positivas de ocorrências dessa ordem, provocadas por helmintos do mesmo gênero. Ainda que *Panagrellus* constitua um gênero distinto de *Turbatrix*, é inegável que algumas das suas espécies são tão próximas deste último que o helminto da massa de tomate fôra, a princípio, identificado por outro pesquisador como *Anquillula aceti*, nome antigo do *Turbatrix aceti*, o verme do vinagre. E, assim, os estudos biológicos realizados para *Turbatrix* adaptam-se para aquelas espécies de *Panagrellus*.

No trabalho para identificar o *Panagrellus redivivus*, estudamos também os caracteres de *Turbatrix aceti* (Fig. 1-a-b-c-d), com o objetivo de mostrar as diferenças entre as duas espécies. Tendo, portanto, quantidades apreciáveis deste helminto em vinagre armazenado, resolvemos submetê-lo a algumas provas, para ver se coincidiam com os resultados obtidos por Peters e por outros autores; podíamos ter uma outra espécie de *Turbatrix* e não a mesma de que se serviram àquêles pesquisadores.

*Turbatrix aceti*, o nematóide do vinagre, como é chamado, é conhecido desde que PETRUS BORELLUS (1656) publicou, sobre êle, uma nota em "Observationum Microscopicarum Centuria". Êle tem sido objeto

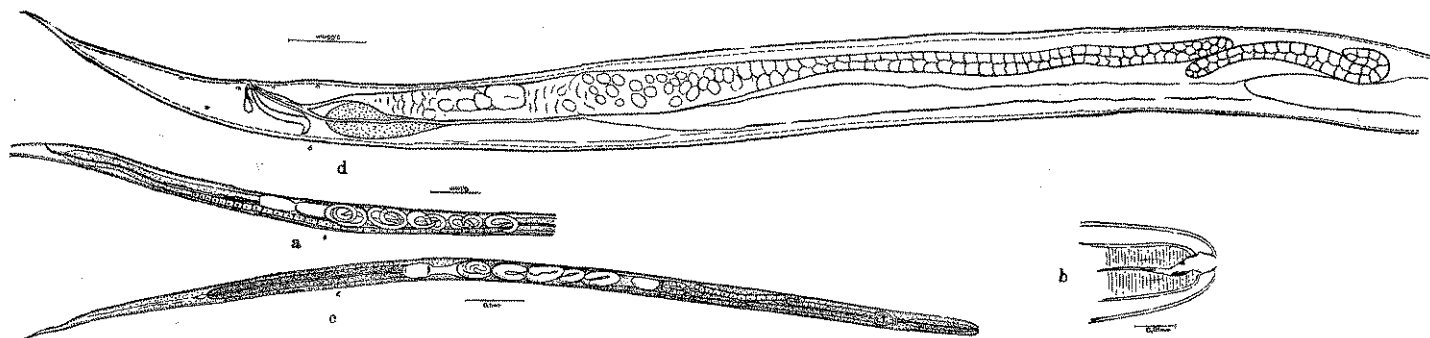


Fig. 1. *Turbatrix acetii*. a, parte posterior da fêmea; b, cabeça; c, fêmea com ovário em posição normal; d, cauda do macho.

de estudo de muitos pesquisadores, que investigaram quase tudo o que se refere à sua biologia. Apesar de muitos desses trabalhos serem de alto valor científico, ainda perduram algumas dúvidas sobre a vida deste verme. A sua alimentação, por exemplo, que alguns pesquisadores acreditam ser constituída de bactérias, principalmente de *Mycoderma aceti*, fermento indispensável na indústria do vinagre, é contestada por outros que não observaram prova dessa suposição em suas experiências. Também sua origem é ainda assunto para estudo, pois tudo o que foi observado ainda não foi suficiente para esclarecê-la de maneira categórica.

As nossas modestas observações não têm o objetivo de resolver esses problemas, mas tão somente mostrar que a espécie com que trabalhamos é a mesma dos autores europeus e que as nossas observações aproximam-se muito dos resultados por eles obtidos.

#### OBSERVAÇÕES BIOLÓGICAS

As observações que pudemos realizar constaram em: a) submeter os vermes no vinagre às temperaturas de 37° e 41° C; b) examinar sua resistência em meio ácido e alcalino; c) verificar a necessidade de oxigênio para sua respiração; d) estudar a contaminação do vinagre; e) cultivar o nematóide em meios de cultura.

a) Submeter os vermes no vinagre às temperaturas controladas de 37° e 41° C:

Em placas de Petri contendo vinagre altamente infestado (cerca de 3.000 por cm<sup>3</sup> contados em lâmina de Pasteur), submetemos os nematóides à temperatura de 37° C. Notamos que, nesta temperatura, os vermes não se desenvolveram e muitos morreram no decorrer dos primeiros dias. Depois de 20 dias, ainda observamos alguns vivos, mas a maioria havia morrido. A temperatura de 41° C foi-lhes fatal, pois 1,00 h após iniciada a experiência todos estavam mortos.

Em baixa temperatura, só fizemos experiências colocando os vermes diretamente no gelo. Nesse ambiente, verificamos que resistiram bem 168 h.

Alguns pesquisadores fizeram provas mais completas sobre a resistência do nematóide às diversas temperaturas. LINDNER (1889) achou que as temperaturas entre 16° e 30° C são as mais favoráveis para a sua reprodução. As temperaturas superiores a 36° C aumentam por pouco tempo sua atividade, mas o fazem perdê-la entre 40° e 42° C. As temperaturas superiores a 42° C são fatais, provocando a morte quase instantânea. Por outro lado, observou Lindner que as temperaturas abaixo de 0° C são fatais ao verme.

Os dados de PALLECCHI (1893) são acordes com os de Lindner, com referência à resistência às altas temperaturas; achou ele que os vermes podem viver por 1,00 h a 40° C, mas morrem em 2 minutos a 45° C. Com referência à resistência à baixa temperatura, as observações de Pallecchi não são acordes com as de Lindner. Em cultura de vermes, submetida ao gelo e sal, com temperatura de -20° C, observou que raros sobreviveram por pouco tempo e, em temperaturas de 0° e -5° C, são praticamente indiferentes, não parecendo sofrer com o frio, diz ele.

HENNEBERG (1900) estabeleceu que as temperaturas entre 20° e 29° C são as mais próprias para o desenvolvimento do nematóide. Para permanecerem vivos, a temperatura não pode exceder de 34° C e ultrapassar o mínimo de 5° C. Notou ainda Henneberg que abaixo de 14° C não há reprodução; em vinagre congelado, permanecem vivos por 15,00 h e podem viver por 5,00 h em -20° C.

PETERS (1928) fez observações conjuntas de temperatura e iluminação, notando a nenhuma influência da luz na vida do verme. Em temperatura de 37° C, observou redução do número de vermes e menor atividade nos restantes. No fim de 9 dias, todos estavam mortos. A -5° C, houve ainda aparecimento de formas jovens, mas, no fim de 46 dias, havia poucos sobreviventes.

b) Influência da acidez e da alcalinidade sobre o nematóide :

Em temperatura ambiente, mantivemos placas de Petri com vinagre infestado, cujo pH fizemos baixar a 1,9. Outras placas tiveram seu pH baixado para 1,6; em ambos os casos, aumentamos a acidez com adição de ácido sulfúrico. Nas caixas com pH 1,9, os vermes resistiram até 24,00 h. Em meio mais ácido, pH 1,6, a mortalidade foi completa em menos de 24,00 h.

Êstes resultados estão muito próximos daqueles obtidos por Peters, em suas experiências. Êsse pesquisador notou que em pH 1,0, depois de 3,00 h, 50% dos vermes estavam mortos e os restantes moviam-se lentamente no fundo da placa. Em pH 1,4, no mesmo espaço de tempo, 20% dos vermes permaneciam no fundo da placa e os restantes ainda ativos. Em pH 1,8, apenas 5% permaneciam no fundo e o restante em franca atividade. Depois de 6,00 h, os resultados foram os seguintes :

pH 1,0 — todos mortos.

pH 1,4 — 10% mortos, 70% no fundo com poucos movimentos e os restantes vivos.

pH 1,8 — 5% mortos, 20% no fundo com poucos movimentos e os restantes vivos.

Depois de 300 h :

pH 1,4 — todos mortos.

pH 1,8 — a maioria ainda viva.

Por outro lado, os ensaios que levamos a efeito para determinar o limite de tolerância do nematóide às mais baixas concentrações de íons de hidrogênio são acordes com os resultados de Peters. Verificamos que os vermes suportam bem um líquido com pH 11,2 por mais de 24,00 h; em pH 11,6, contudo, não resistiram além de 24,00 h. Em ambos os casos, o meio foi alcalinizado com adição de soda. O limite estabelecido por Peters foi de um pH 11,0.

c) Necessidade de oxigênio e gravidade específica :

A tendência que tem o verme de permanecer na parte superior do líquido fez originar a hipótese sustentada por muitos pesquisadores de

que eles assim o fazem em busca de oxigênio para a sua respiração. Essa opinião, contudo, foi destruída por experiências que comprovaram que, mesmo tendo oxigênio na parte inferior de um tubo, os vermes permaneciam na parte superior do mesmo. O fato de permanecerem os vermes em atividade na parte superior do frasco é assunto ainda não entendido pelos pesquisadores. É fora de dúvida que os vermes têm gravidade específica maior do que o vinagre e a sua presença nas camadas superiores do líquido deve-se, sem dúvida, a seus próprios esforços. Os vermes mortos e os vivos que passaram por uma centrifugação são rapidamente trazidos para o fundo do tubo. A suposição de que eles procuram as partes superiores, por ser menor a pressão do fluido, foi desfeita pelos trabalhos de Peters, nos quais mostrou a nenhuma influência da pressão do líquido sobre a posição dos vermes nas camadas superiores.

As nossas experiências foram uma repetição do que já fôra feito antes por outros pesquisadores, para comprovar que os vermes têm muito pouca necessidade de oxigênio para sua sobrevivência.

Em um tubo com Sabouraud líquido, em posição vertical puzemos 10 ml de vinagre infestado, recobertos com vaselina líquida, a fim de evitar a penetração do ar. Mantivemos êsses tubos em observação por longo tempo, vendo sempre a maioria dos vermes na parte superior do líquido, em grande atividade. Depois de 6 meses, foram encontrados alguns ainda vivos. Com o mesmo objetivo, realizamos outro experimento, que constou

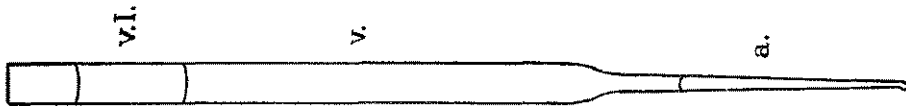


Fig. 2. Pipeta de Pasteur.

de um tubo (Fig. 2), com ponta afilada do lado inferior, (pipeta de Pasteur); na parte central, puzemos 2 ml de vinagre infestado (cerca de 6.000 vermes), de modo a reter o ar na parte inferior afilada e cobertos por uma camada de vaselina líquida. Observamos os vermes em atividade na parte superior do tubo. Essas experiências provaram que eles têm pouca necessidade de oxigênio para permanecerem vivos e em reprodução.

#### d) Contaminação do vinagre. Origem do nematóide :

Permanece desconhecida a origem do nematóide do vinagre. Permaneceram alguns pesquisadores que ele habitasse o solo e chegasse até o vinagre por meio da uva de que é feito. Mas como observou Henneberg, o verme não tem sido encontrado na natureza e, além disso, vinagre fabricado com outros produtos que não a uva também contém o verme.

A maneira da contaminação do vinagre também não é questão resolvida. Para muitos, a recontaminação do vinagre tratado e filtrado se dá por meio de moscas do gênero *Drosophila*. (O tratamento do vinagre é feito por dois processos: com adição de ácido sulfúrico, ou com aquecimento a 54° C e completado com uma filtração). Em laboratório, obtive-



mos vinagre limpo, por meio de duas filtrações, com intervalo de 5 dias da primeira para a segunda.

Com o objetivo de tentar a contaminação por meio de u'a mósca do vinagre, talvez a verdadeira mósca do vinagre — *Drosóphila funebris*, mantivemos 2 placas de Petri, recobertas por uma campânula de vidro (Fig. 3),

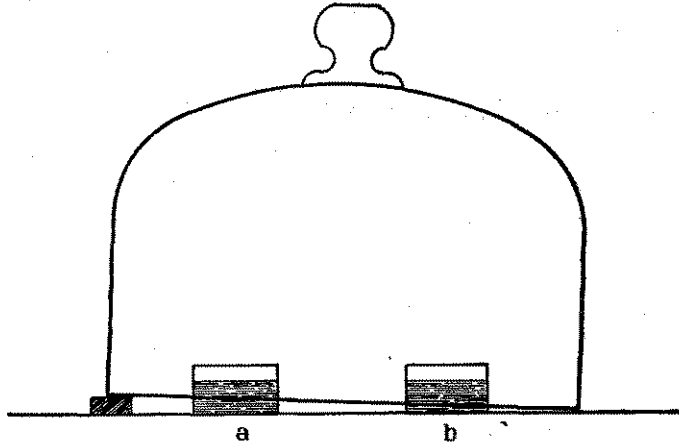


Fig. 3. Placas de Petri cobertas por uma campânula.

ligeiramente levantada de um lado para dar passagem às mósca. Numa das placas, puzemos vinagre altamente infestado e, na outra, vinagre inteiramente limpo dêsses vermes. Essa exposição permaneceu por longo tempo, sendo repetida por mais vêzes, sem jamais haver infestação da placa contendo vinagre limpo. Parece, assim, que a infestação não se dá diretamente pelas mósca, pois estas eram vistas sôbre o vinagre das duas placas e, sem dúvida, passavam de uma para outra muitas vêzes por dia, sem ocorrer a infestação. DAVAINE manteve frascos com vinagre expostos ao ar por mais de 10 anos, não conseguindo a contaminação natural.

e) Meios de cultura :

Usamos, para criar os vermes, o meio líquido de Sabouraud, com muito bom resultado. Também usamos Sabouraud sólido com êxito. Contudo, achamos melhor os meios constituídos de sucos de frutos, principalmente suco de uva e água. Podem viver também em meio de água açucarada, no qual, porém, certo autor verificou que os vermes vivem por algum tempo, mas não há procriação ; contudo, em nossas experiências, ao contrário, observamos o aparecimento de formas jovens.

Henneberg já havia notado a influência da alimentação no desenvolvimento do verme, estabelecendo o conceito : “O tamanho do verme varia de acôrdo com sua alimentação. As formas mais desenvolvidas são encontradas em líquidos ricos de bactérias e de matéria orgânica”. Observamos realmente que, quando o meio é favorável, é freqüente o aparecimento de formas mais desenvolvidas.

A PRESENÇA DO *TURBATRIX*

## NO VINAGRE E A QUESTÃO DA SUA PATOGENICIDADE

Todos os autores são acordes em que o verme deprecia grandemente o vinagre. Del Río, citado por Peters, concluiu que um vinagre infestado não deve ser usado na alimentação do homem, pelos seguintes motivos:

- 1) indica que o vinagre é pobre de qualidade (contendo menos de 4% de ácido acético);
- 2) pela repugnância em consumir um tal produto.

Como se vê, o autor acima citado nem se referiu a um possível parasitismo do verme, uma vez dentro do organismo humano, que outros acharam viável. Lindner chegou mesmo a relacionar certos distúrbios gástricos à ingestão deste helminto, no caso dos moradores de uma pensão cuja cozinha usava vinagre infestado para preparo dos alimentos. Cessado o emprêgo deste vinagre, também cessou o mal que acometera a todos. Lindner, querendo provar a sua patogenicidade, fez alimentar um rato com um líquido contendo desses vermes, no qual, depois de morto, foram encontrados vermes ainda vivos na região cardíaca do estômago, muitos mortos no piloro e maior número de mortos do que vivos no duodeno e no jejuno. Lindner concluiu, dessa experiência, que a bÍlis foi fatal ao verme.

Como vimos atrás, o nematóide deve suportar bem um líquido levemente alcalino como é a saliva, cujo pH a 37° C é de 6,9; o conteúdo do intestino delgado, pH 8,3; a bÍlis, pH 5,3 — 7,4; as fezes, pH 7,1 — 8,8; mas o suco gástrico, cujo pH 0,9 — 1,6, está na vizinhança do limite de tolerância, deve ser-lhe fatal em poucas horas. Isso parece ter sido comprovado com a experiência feita por Peters, que fez um paciente beber, uma cultura rica, diluída em água adocicada, por três vÉzes, num total de cerca de 36.000 vermes. Peters não observou sintomas de infestação e as fezes examinadas não revelaram a presença de vermes vivos ou mortos.

## RESUMO E CONCLUSÕES

Os resultados obtidos referentes aos limites de temperatura máxima e mínima, resistência aos meios ácidos e alcalinos, a sua preferência por alguns meios de cultura parecem indicar, sem nenhuma dúvida, que a espécie por nós estudada é a mesma com que trabalharam Peters e os outros autores.

As conclusões dos outros pesquisadores, parece, não deixaram dúvidas de que o verme não é parasita do homem. Ingerido vivo, sofre, primeiro, a ação da temperatura que não lhe é favorável, e, em seguida, não resiste à acidez do suco gástrico. A ingestão de grande número desses vermes pode, talvez, provocar distúrbios gástricos devidos aos enzimas existentes no seu conteúdo.

## SUMMARY

Our observations on the influence of the temperature, acidity, alkalinity and culture media agree with the idea that we are in presence of *Turbatrix aceti*.

From a study of the literature concerning this worm, we learned that it does not seem pathogenic to man.

The following conclusion were drawn from our tests :

- 1) Confirmation was obtained that the species under study has little need of oxygen.
- 2) It can stand, for several days, the temperature of 37° C, which, however, does not favor its growth.
- 3) In acid media, it tolerates the pH 1,9 for 24 hrs. ; but it does not stand a pH lower than 1,6.
- 4) The limit of resistance to the hydrogen concentration on the alkaline side was pH 11,2.

## BIBLIOGRAFIA

- BORELLUS, PETRUS — 1656 — Oservationum Microspicarum Centuria (*In De vero Telescopii Inventore* . . . p. 1-45). Citado por B. G. Peters, *In J. Helminthology* 6(1) : 1-38, 1928.
- DAVAINE, C. — 1865 — Recherches sur l'anguillule du vinagre (*Rhabditis aceti* Dujardin). *C. R. Acad. Sci.* 61 : 259-262. Citado por B. G. Peters, *In J. Helminthology* 6(1) : 1-38, 1928.
- HENNEBERG, W. — 1900 — Zur Biologie des Essigaales (*Anguillula aceti*). *Zentralbl. f. Bakt.* 6 : 180-184. Citado por B. G. Peters, *In J. Helminthology* 6(1) : 1-38, 1928.
- LINDNER, G. — 1889 — Studien über die Biologie und hygienische Bedeutung der im Essig lebenden Nematoden. *Zentralbl. f. Bakt.* 6 : 633-638, 663-668, 694-698. Citado por B. G. Peters, *In J. Helminthology* 6(1) : 1-38, 1928.
- PALLECCHI, T. — 1893 — Sulla resistenza vitale dell'Anguillula dell'aceto. *Atti Soc. Ligust. Sci. Nat. Geogr.* 4 : 332-343. Citado por B. G. Peters, *In J. Helminthology* 6(1) : 1-38, 1928.
- PETERS, G. B. — 1928 — On the bionomics of the vinegar eelworm. *J. Helminthology* 6(1) : 1-38.

# INCIDÊNCIA DA ESQUISTOSSOMOSE *MANSONI* EM IMIGRANTES ORIUNDOS DE OUTROS ESTADOS

por

MARCELO OSWALDO ÁLVARES CORRÊA  
*Médico do Instituto Adolfo Lutz*

## CONSIDERAÇÕES GERAIS

É do conhecimento geral a intensidade do movimento imigratório originário de Estados pertencentes às zonas geográficas nordeste e leste do país e que tem como meta o Estado de São Paulo e a região do norte do Paraná. Este movimento imigratório, cujos fatores determinantes são de ordem telúrica e econômico-social, tem recrudescido nos anos anteriores, transformando-se em verdadeiro êxodo nos anos de 1951 e 1952 (quadro 1), quando atingiu as cifras de 208.515 e 252.808 imigrantes, respectivamente. Note-se que estes números se referem tão somente aos imigrantes que passaram pela Hospedaria do Serviço de Imigração, sendo certo que boa parte dos que viajam em caminhões não a procuram, indo diretamente para as regiões a que se destinam.

No 1.º semestre de 1953, diminuiu sensivelmente o movimento imigratório, pois foi registrado o total de 56.790 imigrantes.

Ora, os deslocamentos imigratórios constituem fatores de suma importância na disseminação das moléstias infectuosas e parasitárias dominantes nas regiões originárias, dentre as quais avulta a esquistossomose *mansonii*. Através da corrente imigratória, foi a esquistossomose introduzida em Minas Gerais, em nosso Estado, como em Santos — ARANTES (1924), MOURA (1945) e MAGALHÃES (1949) — em São Vicente e Itapema — MOURA (1952) — em Ourinhos, Palmital e Ipaussú — FERREIRA e MEIRA (1952) — e, no Paraná, em Jacarézinho — COUTINHO e PESSÔA (1949) — e em Uraí — REY e colab. (1953). O perigo potencial que a referida imigração representa tem sido objeto de repetidas advertências de nossos pesquisadores — MEIRA e AMARAL (1940), MEIRA (1947), COUTINHO e PESSÔA (1949), COUTINHO (1951), FERREIRA e MEIRA (1952) — tornando-se mesmo enfadonho repisar o assunto.

## QUADRO I

Imigrantes nacionais entrados no Estado de São Paulo

VIA TERRESTRE			
ESTADOS	Decênio 1941-1950	1951	1952
Alagoas .....	43.366	19.902	28.125
Bahia .....	184.609	76.060	113.758
Ceará .....	31.478	20.878	15.025
Dist. Federal .....	3.222	366	594
Espírito Santo .....	1.872	80	55
Goiás .....	54	21	38
Maranhão .....	249	45	44
Mato Grosso .....	112	2	10
Minas Gerais .....	145.280	46.866	44.480
Paraíba .....	5.588	3.642	3.148
Paraná .....	388	23	85
Pernambuco .....	34.034	24.987	31.731
Piauí .....	6.286	2.608	2.625
Rio de Janeiro .....	4.567	317	0
Rio Grande do Norte .....	2.179	773	620
Sergipe .....	18.873	8.949	9.182
Outros estados .....	12	41	66
<b>TOTAL</b> .....	<b>492.169</b>	<b>205.560</b>	<b>249.586</b>
Entrados por via marítima .....	36.253	2.955	3.222
<b>TOTAL GERAL</b> .....	<b>528.422</b>	<b>208.515</b>	<b>252.808</b>

Achamos de interesse determinar qual a incidência da esquistossomose entre os imigrantes que passam pela Hospedaria do Serviço da Imigração, pois, ao que nos consta, os únicos dados existentes até então eram os de AMARAL e LIMA (1941), quando referem que, em 495 amostras examinadas, encontraram 98 casos positivos para ovos de *Schistosoma mansoni*, ou seja 19,79%. Todavia não fornecem dados sobre os grupos etários e nem sobre o estado de origem.

De relativo interesse seria confrontar os dados fornecidos pelo Departamento de Imigração e Colonização referentes à proveniência dos imigrantes, por Estado, no decênio 1941-1950, com os dados da incidência da esquistossomose revelados pelo admirável inquérito coprológico efetuado de 1947 a 1950 pela Divisão de Organização Sanitária do Departamento de Saúde, sob a orientação de BARCA PELLON e TEIXEIRA (1950). Devemos salientar, todavia, que a infestação entre escolares é obviamente inferior à infestação entre os adultos.

QUADRO 2

Inquérito do D.O.S. — infestação dos escolares pelo  
*Schistosoma mansoni*

ESTADO	N.º de escolares examinados	Porcentagem positiva para ovos de <i>Schistosoma mansoni</i>
Alagoas .....	17.668	19,75
Bahia .....	74.590	16,55
Ceará .....	40.314	0,94
Espírito Santo .....	12.939	1,62
Minas Gerais .....	162.176	4,92
Paraíba .....	21.715	7,49
Pernambuco .....	50.263	25,09
Piauí.....	10.424	0,04
Rio Grande do Norte .....	18.808	2,32
Sergipe .....	17.029	29,8

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram examinadas as fezes de 1.010 imigrantes provenientes de outras unidades da Federação, ingressados na Hospedaria da Imigração durante o mês de fevereiro de 1953, escolhidos ao acaso, sem prévia seleção; foram organizadas listas informativas com o nome, idade, local de origem e de proveniência, estado civil e profissão. Quanto a esta última, quase todos os adultos eram lavradores.

O método de exame utilizado foi o da sedimentação em copo, conforme a técnica de Hoffman, Pons e Janer, sendo os exames realizados após 1 hora, no mínimo, de sedimentação e praticando-se a microscopia em esfregaço distribuído em lâmina larga (7,5 x 5 cm).

## RESULTADOS E CONCLUSÕES

No quadro n.º 3 expomos a incidência das várias helmintoses entre os imigrantes:

	Masculino		Feminino		Total	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%
Exames realizados.....	579		431		1.010	
Exames positivos.....	432	74,6	329	76,3	761	75,3
Exames negativos.....	152	25,4	97	23,7	249	24,7
<i>Ascaris lumbricoides</i> .....	232	40	220	51	452	44,7
<i>Ancilostomida</i> .....	261	45	182	42,2	443	43,8
<i>Trichocephalus trichiurus</i> .....	79	13,6	71	16,4	150	14,8
<i>Schistosoma mansoni</i> .....	130	22,4	118	27,3	248	24,5
<i>Strongyloides stercoralis</i> .....	13	2,2	10	2,3	23	2,2
<i>Hymenolepis nana</i> .....	4	0,6	2	0,4	6	0,6
<i>Enterobius vermicularis</i> .....	7	1,2	10	2,3	17	1,6
<i>Tenia sp.</i> .....	5	0,8	1	0,2	6	0,6

No quadro 4, mostramos a incidência da esquistossomose por grupo etário e por sexo, com o correspondente estudo estatístico.

QUADRO 4

Grupo etário					Coefficiente de associação de Yule	X <sup>2</sup>	% positividade
0  — 10	M	P	N	Total	0,275	0,019	M 9,38
	F	3	29	32			
	Total	2	34	36			
10  — 20	M	P	N	Total	-0,248	2,894	M 23,85
	F	26	83	109			
	Total	39	75	114			
20  — 30	M	P	N	Total	-0,261	5,272*	M 20,17
	F	48	190	238			
	Total	50	116	166			
30  — 40	M	P	N	Total	0,014	0,006	M 30,00
	F	30	70	100			
	Total	20	48	68			
40  — 50	M	P	N	Total	0,733	7,300	M 32,14
	F	18	38	56			
	Total	2	33	35			
50  —	M	P	N	Total	0,115	0,0006	M 19,35
	F	6	25	31			
	Total	4	21	25			
Total	M	P	N	Total	-0,097	1,748	M 22,97
	F	130	436	566			
	Total	118	326	444			
		248	762	1010			F 25,58

$$\sum X_i^2 = 15,216^*$$

$$\sum X_i^2 - \frac{X_T^2}{T} = 15,216 - 1,748 = 13,468^*$$

Pela análise se depreende a existência de associação positiva entre sexo masculino e positividade nos indivíduos com idade abaixo de 10 e acima de 30 anos. Nos grupos etários entre 10 e 30 a associação existe entre femininos e positividade.

As diferentes porcentagens se revelaram significantes somente para os grupo 20 |— 30 e 40 |— 50, resultados que, certamente, estão influenciando na significância de  $\sum X^2$ .

O teste de heterogeneidade dos grupos através da diferença  $X^2_{\Sigma}$  —  $X^2_T$  revelou-se significante.

Intervalos de confiança (95%):

% de doentes : 21,90 — 27,20

% de masculinos doentes — 21,20 — 24,74

% de femininos doentes — 24,48 — 28,67

% de masculinos entre os doentes : 46,20 — 58,63

% de femininos entre os doentes : 41,37 — 53,79

Finalmente, no quadro n.º 5, detalhamos a incidência da esquistossomose entre os imigrantes segundo o Estado de origem :

QUADRO 5

ESTADO	N.º de imigrantes examinados	N.º de positivos para ovos de <i>Schistosoma mansoni</i>	Porcentagem
Minas .....	100	5	5%
Bahia .....	274	53	19,3%
Pernambuco .....	158	33	20,8%
Alagoas .....	253	124	49,0%
Sergipe .....	88	30	33,9%
Ceará .....	65	0	0
Paraíba .....	40	3	7,5%
Rio Grande do Norte .....	24	0	0
Piauí .....	8	0	0
Total .....	1.010	248	24,5%

Conforme o demonstram os dados expostos, é grande a incidência da esquistossomose entre os imigrantes, particularmente tendo-se em vista que foi feito apenas um exame de fezes de cada paciente, — é claro que a incidência real é maior — sendo verdadeiramente alarmante a quantidade de portadores da doença que ingressa em nosso Estado.



Seria de real interêsse estabelecer quais os municípios do Estado que têm recebido maior número de imigrantes, o que se tornou possível através dos dados fornecidos pelo Departamento de Colonização e Imigração.

Verificamos, pela sua análise, que o maior volume da imigração visou, desde 1941, os municípios das 7.<sup>a</sup> 8.<sup>a</sup> e 9.<sup>a</sup> regiões agrícolas. No quadro n.º 6, detalhamos os municípios de cada uma das regiões agrícolas que maior volume de imigrantes têm recebido.

É interessante assinalar, todavia, que Ourinhos, Ipaussú e Palmital, (FERREIRA e MEIRA, 1952) não estão dentre os referidos municípios.

QUADRO 6

MUNICÍPIOS	Decênio		
	1941-1950	1951	1952
<b>7.<sup>a</sup> REGIÃO</b>			
Martinópolis .....	25.533	7.157	4.839
Paraguassú Paulista .....	9.979	3.187	3.664
Presidente Prudente .....	52.345	17.978	18.742
Presidente Wenceslau .....	16.753	5.272	6.455
Rancharia .....	30.779	13.299	14.441
Regente Feijó .....	10.132	4.072	3.896
Santo Anastácio .....	16.662	6.964	7.865
Assis .....	8.259	4.072	6.509
Presidente Bernardes .....	12.850	3.440	3.443
<b>8.<sup>a</sup> REGIÃO</b>			
Garça .....	10.445	3.956	4.138
Marília .....	27.190	8.476	9.513
Oswaldo Cruz .....	9.220	5.835	4.666
Pompéia .....	15.241	4.297	4.532
Tupã .....	45.835	16.651	15.496
<b>9.<sup>a</sup> REGIÃO</b>			
Valparaíso .....	13.818	2.460	2.195
Andradina .....	22.325	9.623	6.338
Lins .....	11.127	3.784	4.505
Adamantina .....	1.877	15.262	28.095
Birigui .....	11.259	3.563	5.024
Araçatuba .....	12.921	2.308	3.241

Seriam êstes os municípios visados, preferencialmente, em qualquer possível campanha profilática da esquistossomose a se realizar entre nós.

### RESUMO E CONCLUSÕES

Depois de salientar a função difusora da esquistossomose desempenhada pela imigração de outros Estados do país no Estado de São Paulo, o autor fornece dados da infestação helmintológica encontrados em 1.010 imigrantes — 579 do sexo masculino e 431 do sexo feminino — e a análise estatística dos mesmos.

Foram encontrados 248 (24,5%) casos positivos para ovos de *Schistosoma mansoni*, sendo 130 (22,4%) do sexo masculino e 118 (27,3%) do sexo feminino (quadro 3). A análise estatística (quadro 4) revelou a existência de associação positiva entre o sexo masculino e positividade nos indivíduos com idade abaixo de 10 e acima de 30 anos. Nos grupos etários de 10 a 30 anos, a associação ocorre entre sexo feminino e positividade. Menciona, depois (quadro 6), os municípios do Estado de São Paulo que têm recebido imigrantes em maior quantidade, indicando-os como merecendo prioridade em eventual campanha profilática.

### SUMMARY AND CONCLUSIONS

Emphasis is put on the role of immigration from other states in spreading schistosomosis in the state of São Paulo. Data on helminthologic infestation in 1.010 immigrants — 579 males and 431 females — are furnished as well as a statistical analysis.

Cases in number of 248 (24,5%) had ova of *Schistosoma mansoni* in the faeces; 130 (22,4%) were males and 118 (27,3%) females. Statistical data evidenced a higher incidence in men below 10 and above 30. Between 10 and 30 years age, the higher incidence was in the female group. In table 6 are the counties from the state of São Paulo where higher number of immigrants were located. Need of special care in a prophylactic campaign is emphasized.

---

Deixamos consignados os nossos agradecimentos ao Dr. Amilcar Teixeira Pinto, diretor da Hospedaria de Imigrantes, pelas facilidades que nos proporcionou na execução deste inquérito, e ao Dr. Geraldo Garcia Duarte, da Secção de Estatística da Faculdade de Higiene, pela elaboração da análise estatística.

---

### BIBLIOGRAFIA

- AMARAL, D. F. e P. LIMA — 1941 — Sobre o encontro de exemplares adultos de *S. mansoni*, na cavidade intestinal, em casos de autópsia. *Brasil Médico* 55 : 237-240.
- ARANTES, A. — 1924 — 11 casos autóctones de esquistossomose, em Santos. *Bol. Soc. Med. Cir. S. Paulo* 6(7) : 64-65.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO e SAÚDE. DEPARTAMENTO NACIONAL DE SAÚDE — Distribuição geográfica da esquistossomose mansônica no Brasil. Rio de Janeiro, Divisão de Organização Sanitária, 1950.
- COUTINHO, J. O. — 1951 — Contribuição ao estudo da esquistossomose mansônica no Estado da Bahia — Brasil. *Arq. Hig. Saúde Públ.* 16(47) : 3-42.
- COUTINHO, J. O. e S. B. PESSÔA — 1949 — Sobre um foco autóctone de esquistossomose mansônica em Jacarézinho (norte do Estado do Paraná — Brasil). *Hospital* 35(4) : 531-542.

- FERREIRA, J. M. e J. ALVES MEIRA — 1952 — Três casos de esquistossomose *mansoni* procedentes do interior do Estado de São Paulo (Ourinhos, Palmital e Ipaucú). Foco autóctone na cidade de Ourinhos. *Rev. Paul. Med.* 41(1): 15-18.
- MAGALHÃES, Z. PAIVA — 1949 — Esquistossomiase *mansoni*. Novo foco autóctone em Santos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 9: 5-17.
- MEIRA, J. ALVES — 1947 — Esquistossomiase *mansoni*. *Arq. Fac. Hig. Saúde Públ.* 1(1): 5-146.
- MEIRA, J. ALVES e A. D. F. AMARAL — 1940 — Considerações sobre disseminação helmíntica entre operários, com especial referência aos casos positivos para *S. stercoralis* e *S. mansoni*. *Rev. Biol. Hig.* (S. Paulo) 10(2): 119-137.
- MOURA, S. A. LEÃO DE — 1945 — Esquistossomose *mansoni* autóctone em Santos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 5: 279-311.
- MOURA, S. A. LEÃO DE — 1952 — Contribuição do Laboratório Regional de Santos na epidemiologia da esquistossomose *mansoni* em Santos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 12: 97-109.
- PELLON, A. BARCA e I. TEIXEIRA — 1950 — Vide Brasil. Ministério da Educação e Saúde. Departamento Nacional de Saúde.
- REY, L. e COLABORADORES — 1953 — Comunicação pessoal.
- SÃO PAULO. SECRETARIA DA AGRICULTURA — Boletim do Departamento de Imigração e Colonização, ns. 5, 6 e 7.

## SÔBRE A ESTRUTURA MICROSCÓPICA DO FRUTO DO CAFÉ

J. B. FERRAZ DE MENEZES JUNIOR

*Químico do Instituto Adolfo Lutz*

JORDANO MANIERO

*Biologista do Instituto Adolfo Lutz*

Datam do século XVI as primeiras referências sôbre o café feitas por botânicos europeus. Nas primeiras citações, foi o café considerado fruto de diferentes famílias (*Celastraceæ*, *Rutaceæ*, *Oleaceæ*), até que, em 1753, Linneu, descrevendo a única espécie então conhecida, dá-lhe o nome de *Coffea arabica*, classificando-o na família *Rubiaceæ*. Depois desta data, foram sendo descritas novas espécies (CARVALHO, 1946).

A confusão reinante na nomenclatura das variedades de café introduzidas no Estado de S. Paulo, desde o início da sua cultura, deu motivos a importantes estudos de reclassificação realizados no Instituto Agrônômico de Campinas.

Apesar da vasta literatura sôbre o nosso principal produto, nos seus mais variados aspectos, somos levados a crer, pela busca procedida neste sentido, de que faltam estudos mais recentes sôbre a histologia do fruto de *Coffea arabica* L.

Enquanto a estrutura microscópica da semente do café (endosperma) tem sido objeto de exaustivos estudos por parte de numerosos autores, quer seja em Bromatologia ou em Farmacognosia, a casca (pericarpo) não tem merecido o mesmo interêsse.

Talvez se deva isto ao fato de ser o café encontrado nos mercados mundiais sob a forma de sementes desprovidas da casca, o que torna esta de nenhum interêsse econômico-científico. Entretanto, para os países cafeicultores a casca do café tem significativo valor e representa um problema muito sério no setor da fiscalização do produto industrializado, por ser a mesma utilizada, de preferência, para a fraude do café em pó (MENEZES, 1952).

O café torrado e moído tem sido, desde alguns anos, objeto de estudos por parte de um dos autores dêste trabalho, tendo o mesmo publicado, recentemente, um "Método microscópico para contagem de cascas no café em pó" (MENEZES, 1950). Nesse trabalho, o autor apresenta um desenho original de corte histológico do fruto de *Coffea arabica* L., no qual não exhibe uma camada de células esclerenquimatosas em paliçada situada na parte

superior do endocarpo e que é encontrada em desenhos de trabalhos anteriormente feitos por alguns autores (figs. 1 e 2).

Decidiu o autor publicar o desenho nas condições descritas por ter chegado à conclusão de que os cafés cultivados no território paulista não possuíam a estrutura microscópica do pericarpo semelhante à que vinha sendo apresentada por alguns tratadistas. Para tanto, de longa data, submettera a cortes histológicos numerosos frutos de café procedentes de várias regiões de nosso Estado e, em todos êsses cortes, obtidos não só de frutos maduros (cerejas), como de frutos sêcos (côcos), a estrutura da casca apresentou-se a mesma, **sem paliçada de esclerênquima na parte superior do endocarpo.**

O assunto não foi, então, abordado por haver interêsse de ser estudado, oportunamente, com maiores detalhes, o que hoje procuramos fazer neste ensaio, desejando contribuir com alguns esclarecimentos advindos de nossas observações.

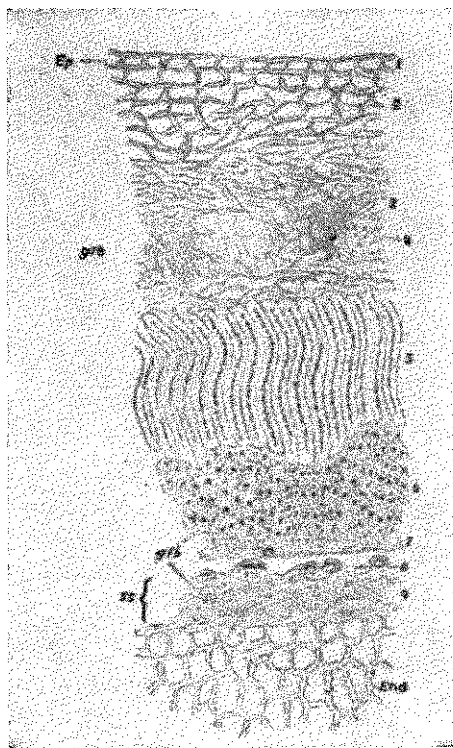


Fig. 1 — Corte transversal de um fruto de café segundo Tschirch e Osterle

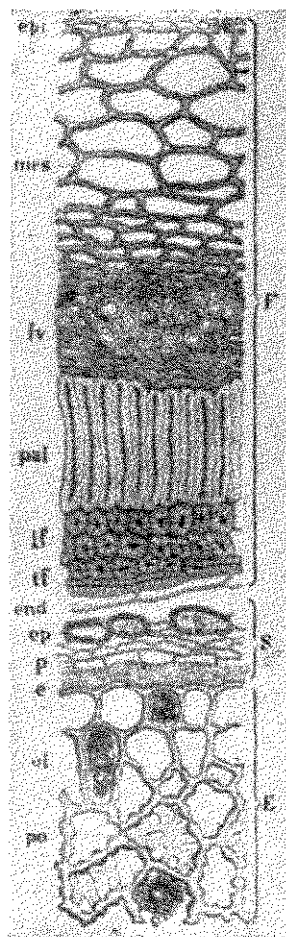


Fig. 2 — Corte transversal de um fruto de café segundo Winton

Descrevendo a histologia do fruto do café, UKERS (1935), sem fazer referência sobre a espécie, exhibe um desenho de Tschirch e Oesterle, no qual é encontrada uma camada de células paliçádicas esclerenquimatosas sobre o endocarpo, conforme se observa na fig. 1, que é reprodução fotográfica do mesmo desenho.

WINTON (1939), ao tratar da parte referente ao café, apresenta um desenho semelhante ao de Tschirch e Osterle, como se pode notar na foto n.º 2 e, em idênticas condições, menciona a referida camada de células paliçádicas esclerenquimatosas, sem, todavia, esclarecer a que espécie corresponde a descrição histológica feita.

A fig. 3 é a reprodução do desenho do corte histológico do fruto de *Coffea arabica* L., publicado pelo autor, sem o devido esclarecimento, no "Método microscópico para contagem de cascas no café em pó":

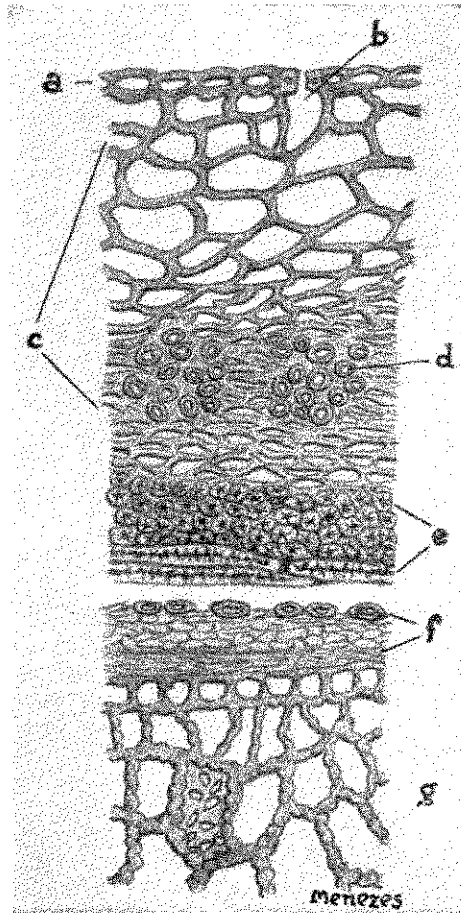


Fig. 3 — Corte transversal do fruto de *C. arabica* L.

Confrontando-se as três figuras aqui estampadas, notamos que falta, na última, a camada de células paliádicas esclerenquimatosas, logo acima do endocarpo.

Acredita-se que a variedade *typica* do *arabica* deu origem à cultura existente na maioria dos países cafeicultores da América Central e do Sul e que, ainda, representa um coeficiente elevado no volume do produto atualmente consumido.

Desta forma, ao se fazer qualquer citação sobre café, desde que não haja alusão a determinada espécie, subentende-se tratar de *Coffea arabica* L.

Os autores citados, como dissemos, não esclarecem a que espécie de café corresponde a histologia do pericarpo em questão e, ainda, como os demais autores que tratam do assunto, limitam-se a colocar logo abaixo do título — CAFÉ — o nome científico — *Coffea arabica* L., pondo em evidência que o assunto focalizado refere-se, exclusivamente, à espécie *arabica*.

Um hábito que vem do passado e perdura, ainda, até nossos dias, é o de se reproduzirem desenhos de trabalhos já publicados, sem o cuidado de uma nova revisão. Este fato, que só se justifica por um grau de franca e inteira confiança nas citações de autoridades no assunto, é contrário ao espírito de pesquisa que requer revisão contínua, para não se fazer uma afirmativa estribada, muitas vezes, em dados pouco seguros.

É, aliás, muito importante apresentar-se uma recente ilustração toda vez que se deseja descrever ou documentar um assunto já tratado, pela simples razão de se poder confirmar a sua exatidão e verificar, ainda, algum detalhe que, em anteriores estudos, tenha passado despercebido.

Para se chegar à conclusão da não existência da camada de células paliádicas esclerenquimatosas na parte superior do endocarpo dos frutos de *Coffea arabica* L. e variedades, procederam-se a cortes histológicos em 30 amostras de café, constituídas de grãos maduros e verdes, gentilmente cedidas pelo Instituto Agronômico de Campinas, por intermédio do agrônomo prof. J. E. Teixeira Mendes.

Estas amostras, representadas por diferentes espécies e variedades de frutos de café, cultivados e classificados por aquêle conceituado Instituto de pesquisas, são as seguintes :

#### VARIEDADES E FORMAS DE VALOR ECONÔMICO

- 1 — *Coffea arabica* L. var. *typica* Cramer (nacional ou comum)
- 2 — *Coffea arabica* L. var. *typica* Cramer forma *xanthocarpa* (Caminhoá) Krug
- 3 — *Coffea arabica* L. var. (*sumatra*) Cramer
- 4 — *Coffea arabica* L. var. *bourbon* (B. Rodrigues) Choussy
- 5 — *Coffea arabica* L. var. *bourbon* (B. Rodrigues) Choussy forma *xanthocarpa* Krug
- 6 — *Coffea arabica* L. var. *maragogipe* Hort e Froehner

- 7 — *Coffea arabica* L. var. *maragogipe* Hort e Froehner forma *xanthocarpa* Krug  
 8 — *Coffea arabica* L. var. *cera* K. M. C.  
 9 — *Coffea arabica* L. var. *semperflorens* K. M. C.  
 10 — *Coffea arabica* L. var. *caturra* (não está descrita).

## VARIEDADES DE POUCO OU NENHUM INTERÊSSE ECONÔMICO

- 11 — *Coffea arabica* L. var. *angustifolia* (Roxb.) Miq.  
 12 — *Coffea arabica* L. var. *bullata* Cramer  
 13 — *Coffea arabica* L. var. *erecta* Ottolander  
 14 — *Coffea arabica* L. var. *goiaba* Taschdjian  
 15 — *Coffea arabica* L. var. *laurina* (Smeathman) D.C.  
 16 — *Coffea arabica* L. var. *mokka* Hort ex Cramer  
 17 — *Coffea arabica* L. var. *monosperma* Ottolander ex Cramer  
 18 — *Coffea arabica* L. var. *pendula* Cramer  
 19 — *Coffea arabica* L. var. *polysperma* Burek  
 20 — *Coffea arabica* L. var. *purpuracens* Cramer  
 21 — *Coffea arabica* L. var. *variegata* Cramer  
 22 — *Coffea arabica* L. var. *anomala* K. M. C.  
 23 — *Coffea arabica* L. var. *nana* K. M. C.  
 24 — *Coffea arabica* L. var. *pé de pato* (não está descrita)  
 25 — *Coffea arabica* L. var. *hybrida* (*laurina* e *maragogipe*)

## OUTRAS ESPÉCIES

- 26 — *Coffea liberica* Hiern.  
 27 — *Coffea congensis* Froehner  
 28 — *Coffea canephora* Pierre ex Froehner (hoje *robusta*)  
 29 — *Coffea Dewevrei* De Wild. et Em. Dur. var. *excelsa* Chev.  
 30 — *Coffea Dewevrei* var. 387

Na obtenção dos cortes histológicos, foram utilizados, de início, métodos usuais sem resultados satisfatórios. Incumbiu-se, então, um dos autores (MANIERO, 1951) de aplicar um processo próprio, ensaiado desde alguns anos e que consiste em estender, por meio de pincel, uma solução de goma-laca à superfície de parafina a ser cortada em micrótomo, cada vez que se obtém uma preparação, com o intuito de impregnar e impedir o esfacelamento do corte.

Dentre as numerosas lâminas feitas por este processo, cêrca de 150 foram selecionadas para dar orientação aos nossos estudos, esclarecer e documentar nossas observações.



A finalidade principal dêste trabalho, como dissemos, foi a de rever as estruturas do pericarpo de algumas espécies e variedades de café, a fim de se constatar a existência ou não da paliçada de esclerênquima; entretanto, tivemos ocasião de estudar, também, os poros das células do endosperma (semente) e fazer outras interessantes observações.

A camada paliçádica encontrada nos compêndios é constituída de células de paredes largas, alongadas e uniformes e, ainda, de contextura esclerenquimatosa (figs. 1 e 2).

Com esta característica não encontramos nenhuma estrutura dentro o material examinado. Constatou-se, todavia, em cortes de algumas espécies e variedades de café, logo acima do endocarpo, a presença de uma "nova camada" paliçádica com células estreitas e de paredes finas (fig. 4), que se distingue fãcilmente da camada paliçádica esclerenquimatosa apresentada pelos citados autores.

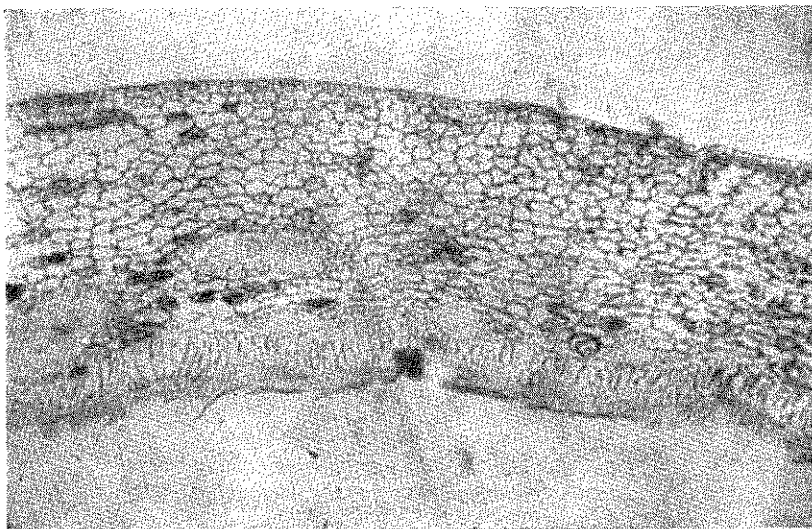


Fig. 4 — Microfoto de corte transversal do fruto de *Coffea congestis*, mostrando a "nova camada" paliçádica de paredes finas.

Êste tecido, talvez, seja responsável pela retenção de grande porcentagem de água nos frutos maduros.

Em cortes feitos de grãos de uma mesma árvore, em diferentes graus de maturação, só foi observada a "nova camada" nos frutos maduros. Esta camada foi notada nos cortes dos seguintes frutos de nossa coleção:

*canephora* — *typica* — *angustifolia* — *maragogipe* — *xanthocarpa* — *sumatra* — *purpuracens* e *anomala*.

Em nenhum dêles, todavia, se constatou a presença de paliçada de esclerênquima como as que são exibidas nas figuras 1 e 2.

É provável que a presença desta camada tenha sido dada por falsa interpretação de corte histológico defeituoso, obtido em condições pouco

seguras e, no qual, as primeiras porções das fibras transversais do endocarpo tenham sido dobradas ao serem seccionadas ou, ainda, ter sido o corte feito em fruto de espécie ou variedade de café pouco conhecida e tida por *arabica*.

Não foi encontrada paliçada de esclerênquima nem a “nova camada” nos seguintes frutos de :

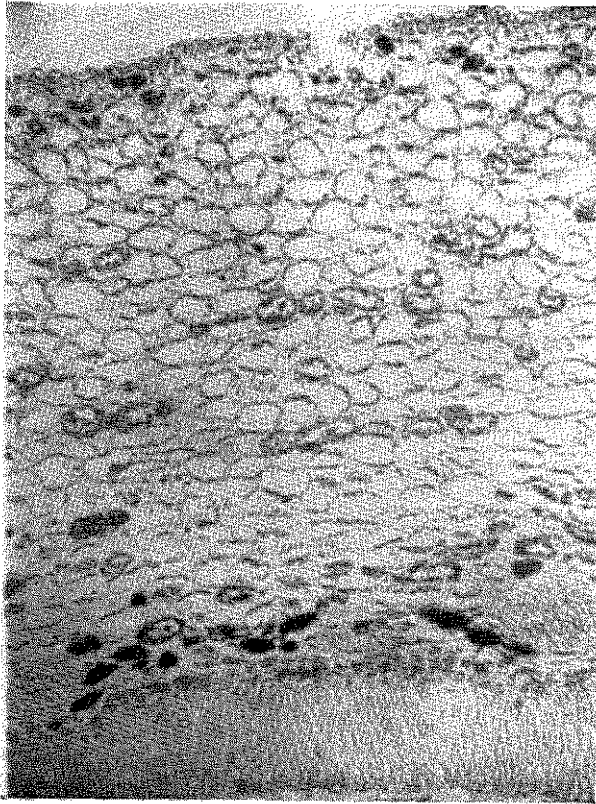


Fig. 5 — Microfoto de corte transversal no fruto de *Coffea arabica* L.

*polysperma* — *semperflorens* — *variegata* — *goiaba* — *congensis* —  
*laurina* — *maragogipe* — *mokka* — *bourbon* — *cera* — *monosperma*  
 — *erecta* — *nana* — *angustifolia* — *pé de pato* — *Deverrei* — *caturrea*  
 — *typica* — *bullata* — *pendula* e var. 387.

Êstes cortes apresentaram estrutura idêntica à que vemos na fig. 5 e de acôrdo com o desenho da fig. 3.

A espessura do pericarpo é variável. Entre as espécies e variedades de café, existe alguma diferença na grossura da casca; entretanto, na espécie *arabica*, há uma quase uniformidade das camadas, donde ser a espessura pouco variável.

Característica interessante apresenta a espécie *liberica*, cujo fruto é quase esférico, muito maior que o do *arabica* e tem a casca bastante espessa, consistente e polpa desenvolvida. O pericarpo do fruto dessa espécie está constituído, na sua maior parte, pelo mesocarpo, exibindo várias camadas de células isodiamétricas que diminuem de tamanho à proporção que se aproximam do endocarpo. Êste, por sua vez, apresenta a singularidade de não ser formado por fibras ou células esclerenquimatosas, mas por células levemente alongadas, de paredes finas, paralelamente ajustadas umas às outras e dispostas em duas ou três camadas.



Fig. 6 — Microfoto de corte transversal do fruto de *Coffea arabica* L. var. *mokka*, mostrando as fibras do endocarpo, grandes e achatadas, e em posição tangencial.

Aqui, portanto, não existe a “nova camada” e o endocarpo não é esclerenquimatoso.

Nas outras espécies e variedades, as células do esclerênquima podem se apresentar em posição tangencial (fig. 6), radial ou cruzada. Nos compêndios, estas fibras figuram sempre cruzadas.

O pericarpo apresenta um grande número de células cheias de substância de aspecto resino-oleoso que reage bem à ação dos corantes, muito

embora não se altere em presença do álcool e do xilol durante o tratamento para montagem. Não foram feitos estudos histoquímicos para a determinação da natureza desse conteúdo celular, por fugir um pouco ao assunto. Estas células de aspecto glandular, que poderão ser notadas na fig. 7, não foram citadas pelos autores consultados.

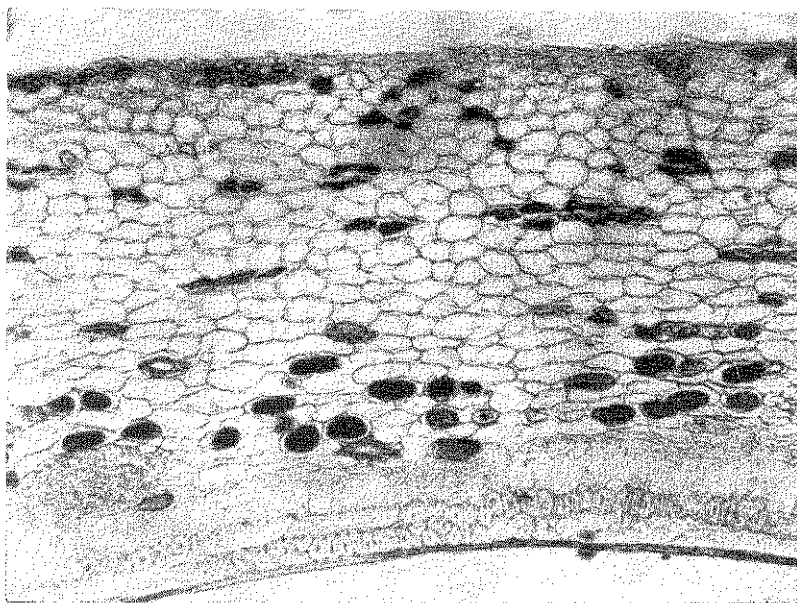


Fig. 7 — Microfoto de corte transversal do fruto de *Coffea congestis*, mostrando as células glandulares.

Em cortes de algumas variedades, verificamos a presença de cristais no endocarpo.

Observando os diversos caracteres do fruto de café, notamos, como fato provavelmente inédito, a presença de pêlos no epicarpo de *Coffea congestis* Froehner, como nos mostra a fig. 8 :

Fato importante, digno de nota, é a relação que existe entre as espécies e variedades *nana*, *congestis*, *laurina* e *polysperma*, quanto à presença de lojas com sementes abortadas. Enquanto que na variedade *nana* encontramos uma loja com semente abortada ao lado de outra com semente desenvolvida, em *congestis* e *laurina* verificamos duas sementes abortadas e duas desenvolvidas e, finalmente, em *polysperma*, três sementes abortadas ao lado de três normais (fig. 9).

Sobre este assunto citaremos os trabalhos de CARVALHO e colab. (1952), em que interessantes estudos são feitos com referência a lojas sem sementes em híbrido das variedades *laurina* e *mokka*.

Quanto à presença de poros do endosperma, citados nos compêndios, só foram, por nós constatados, nas seguintes variedades :

*variegata*, *bourbon*, *cera*, *angustifolia*, *pé de pato* e *xanthocarpa*.

Em algumas variedades onde êles se apresentam (fig. 10), não são visíveis em condições normais de iluminação, sendo necessário dar uma determinada inclinação ao espelho para serem notados. O corante, ao contrário de tornar mais visível êste caráter, dificulta, em parte, a sua observação.

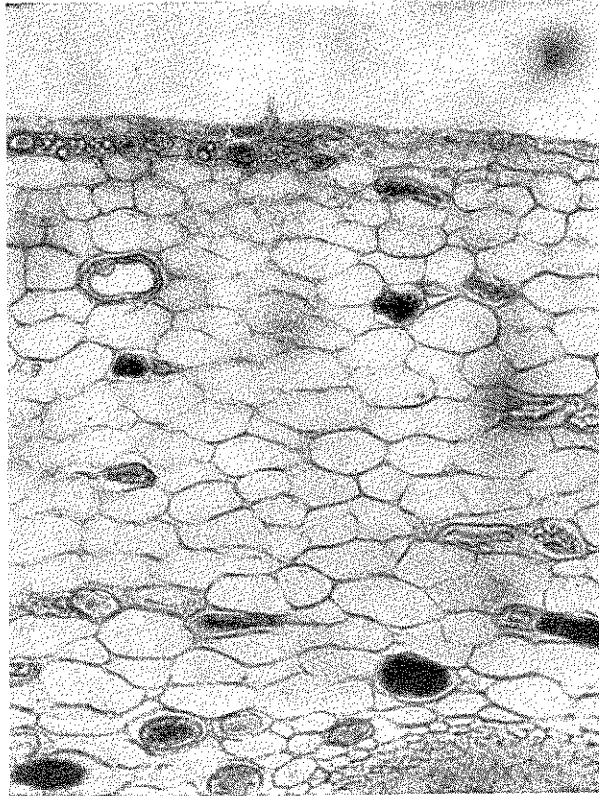


Fig. 8 — Microfoto de corte transversal do fruto de *Coffea congesta*, notando-se um pêlo implantado no epicarpo.

Por estas observações e, ainda, comparando as paredes das células, vistas de superfície e em cortes, não nos parece tratar-se de perfurações, como querem os autores, e sim de concavidades provenientes do adelgaçamento das paredes das células.

Muito embora, ao decidirmos realizar êste trabalho, não fôsse nossa intenção apresentar um estudo histológico minucioso do café, as observações que tivemos oportunidade de fazer nos levam a antever possibilidades de se estabelecerem relações genéticas entre as variedades por meio de um mais aprofundado estudo de suas estruturas.

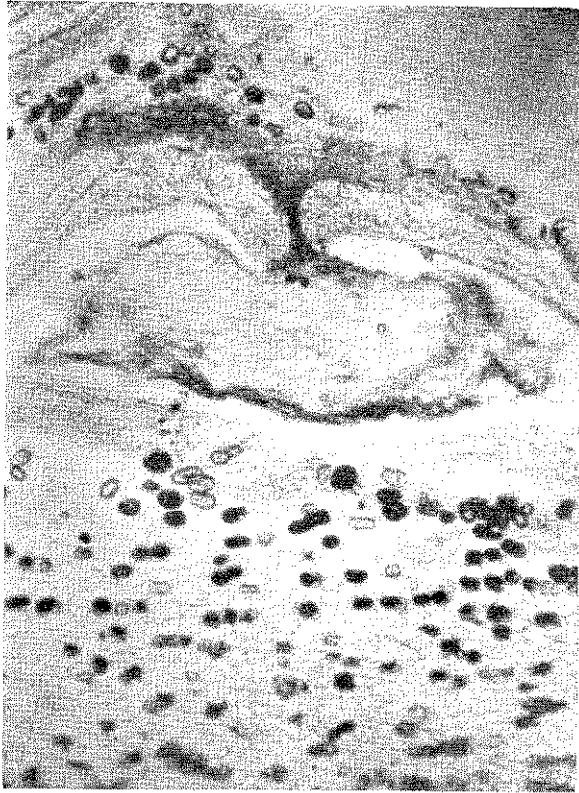


Fig. 9 — Microfoto de corte transversal de *Coffea arabica* L. var. *polysperma* Burek, mostrando o pericarpo com loja contendo semente abortada.

### RESUMO

No presente trabalho os autores fazem um estudo sumário de diferentes espécies e variedades de café cultivadas no Estado de S. Paulo, usando um novo método de cortes histológicos.

Baseados em observações próprias sobre a histologia do pericarpo, notaram os autores a não concordância das estruturas estudadas com as descritas pelos autores consultados.

Os autores frisam, principalmente, a ausência de uma camada paliçádica esclerenquimatosa sobre o endocarpo em todas as espécies e variedades estudadas (figs. 1, 2 e 3).

Por outro lado, fazem notar a presença, em algumas variedades, de uma “nova camada” paliçádica não esclerenquimatosa (fig. 4), cuja função seria a de reserva de água nos frutos maduros.

Verificaram, ainda, a presença de pêlos no epicarpo da espécie *congensis* (fig. 8), numerosas células glandulares no mesocarpo (fig. 7) e lojas com

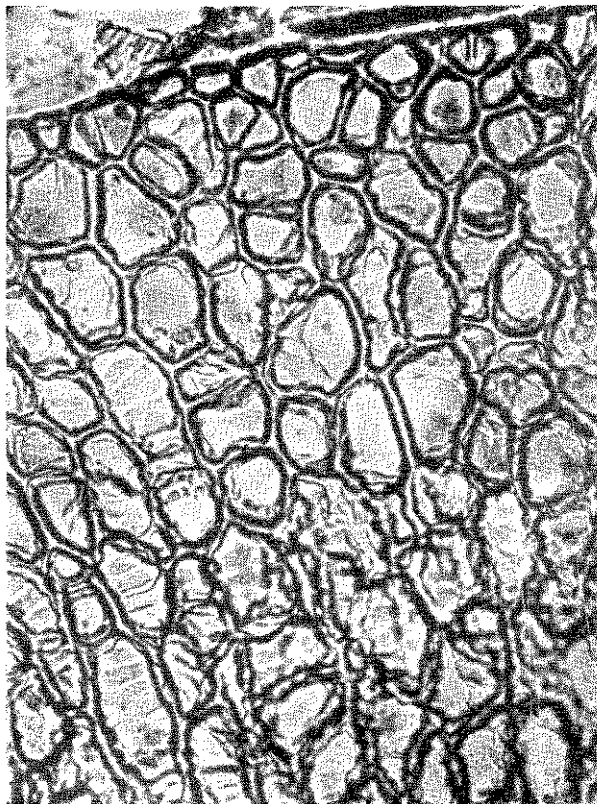


Fig. 10 — Microfoto de corte transversal onde são notados os poros do endosperma.

sementes abortadas ao lado de sementes desenvolvidas, na espécie *congensis* e nas variedades *nana*, *laurina* e *polysperma* (fig. 9).

Os autores documentam suas observações apresentando uma série de microfotos e desenhos originais.

#### SUMMARY

In the present paper the authors make a previous study of the different species and varieties of the coffee cultivated in the State of São Paulo, by using a new method of cross section.

Based on their own observation about the histology of the pericarp, the authors noticed the non-existence of any connection between the structures studied and those described by the authors who were consulted.

The authors emphasize the absence of a palisade layer of sclerenchyma on the endocarp in all the species and varieties studied by them (figs. 1, 2 and 3).

On the other hand, they inform of the presence of a new nonsclerenchymatous palisade layer in some varieties whose function would consist in a reserve of water in ripe fruit.

Besides, they verify the presence of hair on the epicarp of the *congensis* species (fig. 8), glandular cells in the mesocarp (fig. 7) and cavities with developed and non-developed seeds, in the *congensis* species and in the varieties *nana*, *laurina* and *polysperma* (fig. 9).

The authors confirm their observations by presenting a series of micro-photos and original drawings.

#### BIBLIOGRAFIA

- CARVALHO, A. — 1945 — Distribuição geográfica e classificação botânica do gênero *Coffea* com referência especial à espécie *arabica*. *Bol. Sup. Serv. Café* (Secr. Fazenda) **20**(226): 1138-1146, **21**(227): 6-10, 1946, **21**(228): 69-73, 1946, **21**(229): 127-130, 1946, c **21**(230): 174-180, 1946.
- CARVALHO, A. — 1952 — Toxionomia de *Coffea arabica* L.; v — Algumas recombinações genéticas. *Bragantia* **12**(4/6): 171-178.
- CARVALHO, A. e COLAB. — 1952 — Melhoramento do cafeeiro. *Bragantia* **12**(4/6): 98-129.
- MANIERO, J. — 1944 — Contribuição ao estudo de plantas medicinais. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **4**(1): 210-211.
- MANIERO, J. — 1949 — Método de cortes para carvão vegetal. *Rev. Ciência Cultura* **1**(4): 207-208.
- MANIERO, J. — Novo recurso de técnica histológica. Comunicação à III Reunião da Sociedade Botânica do Brasil. Campinas, 1951.
- MENEZES JR., J. B. F. e B. A. A. BICUDO — Sobre um método microscópico para contagem de cascas no café em pó. São Paulo, Sup. Serv. Café, 1950. 31p.
- MENEZES JR., J. B. F. e B. A. A. BICUDO — 1951 — Sobre um método microscópico para contagem de cascas no café em pó. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **11**: 13-47.
- MENEZES JR., J. B. F. — 1952 — Fraudes do café. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **12**: 111-144.
- UKERS, W. H. — All about coffee. 2<sup>d</sup> ed. New York, The Tea & Coffee Trade Journal, 1935.
- WINTON, A. L. e K. B. WINTON — The structure and composition of foods. New York, John Wiley, 1939, vol. 4.





# DOSAGEM DA PENICILINA NO SANGUE E PESQUISA NO LIQUOR DE NEUROLUÉTICOS TRATADOS COM PENICILINA PROCAÍNICÁ OU CRISTALINA.

por

HOMERO PINTO VALLADA  
*Médico Auxiliar da Clínica Neurológica \**

e

HASSIB ASHCAR  
*Médico-Chefe da Seção de Micologia\*\**

## INTRODUÇÃO

A necessidade de simplificar o método de administração da penicilina no tratamento da neuroles da Clínica Neurológica do Hospital das Clínicas (Serviço do Prof. Adherbal Tolosa), constituiu o motivo principal deste trabalho iniciado em 1950. Nessa ocasião era usado o esquema terapêutico clássico que consistia na administração de 50.000 a 100.000 u. de penicilina G cristalina, por via intramuscular, de 3 em 3 horas.

Como é sabido a neuroles, estágio avançado da sífilis, é moléstia grave, por isso, a substituição do referido esquema clássico de tratamento pela administração mais prática e econômica de penicilina G procaína, na dose de 300.000 a 600.000 u., por via intramuscular, cada 24 horas, somente deveria ser feita com base experimental, controlando-se os níveis de penicilina no sangue e no líquido cefalorraquidiano.

A divergência de resultados de alguns autores — KINSMAN e D'ALONZO (1946), CAIRNS (1947), REDFEARN e ELITHORN (1949), SMITH (1951), Mc DERMOTT e NELSON (1945) — com relação à passagem da penicilina para o liquor, quando administrada parenteralmente, indicava a necessidade de novos estudos experimentais que viessem contribuir para o esclarecimento do assunto. Com esse propósito, fizemos as dosagens de penicilina no soro sanguíneo e no liquor de neuroluéticos, submetidos a diversos esquemas de tratamento.

Cumpre-nos referir que, por motivos independentes de nossa vontade, este trabalho, iniciado em 1950, não pôde antes ser dado à publicação.

## MATERIAL E MÉTODO

As amostras de sangue e de líquido cefalorraquidiano foram colhidas de pacientes internados na Clínica Neurológica (Serviço do Prof. Adherbal

\* Do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Serviço do Prof. Adherbal Tolosa).

\*\* Da Diretoria de Microbiologia e Diagnóstico do Instituto Adolfo Lutz.

Entregue para publicação em 10 de novembro de 1953.

Tolosa) do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. As dosagens de penicilina foram feitas na Seção de Micologia da Diretoria de Microbiologia e Diagnóstico do Instituto Adolfo Lutz. Para cada dosagem de penicilina, extraíam-se cerca de 10 ml de sangue de veia da prega do cotovelo e 4 a 5 ml de líquido cefalorraquidiano.

As amostras de sangue, após coagulação, para separação do soro, e as de líquido cefalorraquidiano foram conservadas em refrigerador, até o momento da dosagem de penicilina.

Foram feitos testes em amostras de sangue, como adiante veremos, para verificação da influência do tempo de conservação em geladeira e do tempo de permanência na temperatura ambiente sobre os títulos de penicilina.

Os produtos do antibiótico utilizados nestas pesquisas foram Penicilina G Cristalina e Penicilina G Procaína. A maior parte da penicilina, usada nestas pesquisas, foi fornecida, gentilmente, pela firma E. R. Squibb & Sons a qual consignamos nossos agradecimentos.

O método de dosagem da penicilina foi o biológico das diluições seriadas em tubos, processo de FLEMING (1942), sendo usado como germe de prova a amostra de *Staphylococcus aureus* H. O menor título de penicilina dosável por esse método é de 0,04 u. por ml. Esse título é obtido quando o ponto de leitura cai no primeiro tubo da série de diluições, no qual juntam-se, em volumes iguais, meio de cultura e soro sanguíneo ou liquor.

Níveis líquóricos de penicilina inferiores a 0,04 u. por ml puderam ser pesquisados pelo emprêgo de meio de cultura cinco vezes mais concentrado, usando-se o próprio líquido cefalorraquidiano como veículo diluidor. Dessa forma é possível determinar títulos líquóricos inferiores a 0,04 u. até o valor mínimo de 0,016 u. por ml.

#### INFLUÊNCIA DO TEMPO DE CONSERVAÇÃO EM GELADEIRA SOBRE OS TÍTULOS DE PENICILINA NO SANGUE

Foram aproveitadas, para essa verificação, amostras de sangue que deram títulos significativos de penicilina. Essas amostras de sangue foram de pacientes submetidos a 2 esquemas terapêuticos: um de 300.000 u. de penicilina G procaína, cada 12 horas e outro de 600.000 u. do mesmo antibiótico cada 24 horas. Em ambos os casos as amostras de sangue foram sempre colhidas momento antes da administração seguinte de penicilina. Uma parte de cada amostra de sangue foi conservada numa geladeira de laboratório cuja temperatura era uniforme, em torno de +4°C, e a parte restante do sangue noutra geladeira, de enfermaria, com temperatura variável, devido à introdução e retirada mui freqüente de material.

Os resultados das dosagens de penicilina das amostras de sangue conservadas, comparativamente, nas duas referidas geladeiras se encontram no quadro 1.

Analisando-se os valores contidos no quadro 1 observa-se que, apesar da diferença de temperatura nas duas geladeiras referidas, pela explicação dada, não houve variação significativa nos títulos de penicilina, quando as amostras de sangue foram conservadas até o tempo máximo de 76 horas, pois, em nove determinações os títulos foram iguais sete vezes.

QUADRO 1

Conservação em geladeira (horas).	Unidade de penicilina por ml de sôro sanguíneo		Permanência na temp. ambiente (minutos) —(*)—	Observações
	Geladeira do laboratório	Geladeira da enfermaria		
3,10 .....	0,18	0,18	40	300.000 u cada 12 h (caso J. C. S.).
3,45 .....	0,45	0,45	25	
4,00 .....	0,16	0,16	20	
4,00 .....	0,18	0,12	20	
4,15 .....	0,26	0,28	30	
76,00 .....	0,32	0,32	20	
100,00 .....	0,16	0,12	20	
100,15 .....	0,16	0,12	40	
148,15 .....	0,16	0,12	30	
161,15 .....	0,26	0,18	40	
3,45 .....	0,10	0,06	45	600.000 u cada 24 h (caso S. V. S.).
4,15 .....	0,06	0,06	30	
27,45 .....	0,06	0,06	20	
100,00 .....	0,12	0,06	20	
185,10 .....	0,12	0,06	40	

—(\*)— Essa permanência se refere apenas às amostras que foram conservadas na geladeira da enfermaria.

Por outro lado, quando o tempo de conservação nos refrigeradores foi mais longo, variando de 100 a 185 horas, os títulos das amostras de sangue, conservadas na geladeira do laboratório, foram sempre superiores, nas seis dosagens de penicilina.

#### INFLUÊNCIA DO TEMPO DE PERMANÊNCIA, NA TEMPERATURA AMBIENTE, SOBRE OS TÍTULOS DE PENICILINA

O tempo de permanência das amostras de sangue na temperatura ambiente, que variou de 20 a 40 minutos, parece não ter influído, significativamente, nos títulos de penicilina, o que se constata pela leitura dos resultados contidos no quadro 1. Com efeito, em nove dosagens de penicilina houve sete vêzes concordância de títulos.

#### DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS SANGUÍNEOS DE PENICILINA E SUA PESQUISA NO LIQUOR DE NEUROLUÉTICOS SUBMETIDOS AOS SEGUINTEES ESQUEMAS DE TRATAMENTO

##### PENICILINA G PROCAÍNA

- A) 300.000 u. cada 24 horas.
- B) 300.000 u. cada 12 horas.
- C) 600.000 u. cada 24 horas.

## PENICILINA G CRISTALINA

D) 50.000 u. de 3 em 3 horas.

E) 100.000 u. de 3 em 3 horas.

1.º Caso — A. F. O., registro H. C. (Hospital das Clínicas) n.º 172.662, com 31 anos de idade. Paralisia geral progressiva oligossintomática. Paciente em repouso relativo no leito.

2.º Caso — E. A., registro H. C. n.º 89.861, com 29 anos de idade. Mielite luética. Paciente paraplégico e, por isso, permanentemente acamado.

Nesses dois pacientes, as injeções de 300.000 u. de penicilina procainica, cada 24 horas, foram aplicadas, profundamente, na região glútea, alternando os lados direito e esquerdo. Não houve manifestações de dor, formação de nódulos e nem fenômenos alérgicos.

Foram colhidas amostras de sangue venoso e de liquor suboccipital, 24 horas após a administração de penicilina, isto é, momento antes da aplicação do dia seguinte.

No primeiro caso, de 4 dosagens de penicilina no sangue, em dias sucessivos, apenas em uma vez foi verificada a presença de penicilina, com título de 0,06 u. por ml de sêro sanguíneo, enquanto que, nas quatro respectivas pesquisas do antibiótico no liquor, os resultados foram todos negativos.

No segundo caso, foram feitas 22 dosagens, em dias sucessivos, encontrando-se somente por duas vezes penicilina no sangue, com título de 0,06 u. por ml. No decurso do tratamento, 3 pesquisas de penicilina no liquor, feitas uma em cada semana, não revelaram também presença desse antibiótico.

QUADRO 2

Abril/1950	Unidades de penicilina por ml	
	Sêro sanguíneo	Liquor
5 .....	0,32	0
6 .....	0,64	0
7 .....	0,26	0
8 .....	0,45	0
9 .....	0,14	0
10 .....	0,06	0
11 .....	0,28	0
12 .....	0,12	0
13 .....	0,24	0
14 .....	0,14	0
15 .....	0,28	0
16 .....	0,06	0

B) PENICILINA G PROCAÍNA — 300.000 u. diluídas em 1 ml de água bidestilada, por via intramuscular, cada 12 horas. Foram utilizados 3 pacientes submetidos a êsse esquema de tratamento. As amostras de sangue e de liquor foram colhidas momento antes de administrar cada nova dose de penicilina.

- 1.º Caso — A. F. O., registro H. C. n.º 172.662, já referido anteriormente. Os resultados das dosagens diárias de penicilina se encontram no quadro 2.
- 2.º Caso — E. A., registro H. C. n.º 89.861, também já referido. Os resultados das dosagens de penicilina em dias diferentes, durante o tratamento, foram os do quadro 3.
- 3.º Caso — J. C. S., registro H. C. n.º 186.369, com 45 anos de idade. Mielite lúética ascendente. Paciente imobilizado no leito por paralisia absoluta dos membros inferiores, apresentando escaras de decúbito, com febre elevada e irredutível. As injeções do antibiótico foram intradeltóides profundas, alternando os lados. Os resultados das dosagens de penicilina se encontram no quadro 4.

Nesses 3 pacientes foram feitas, no total, 38 dosagens de penicilina no sôro sanguíneo e 22 no liquor. A maioria das amostras de liquor foram obtidas por via suboccipital, e nelas as pesquisas de penicilina foram tôdas negativas. As determinações, no sangue, revelaram sempre presença de penicilina, sendo 0,06 u. por ml o título menor encontrado (4 vêzes) e o maior 0,64 u. (1 vez). A média encontrada dos títulos de penicilina foi de 0,223 u. por ml com desvio padrão de  $\pm 0,117$ .

As determinações diárias, dos títulos de penicilina no sangue, não sofreram influência relativamente à duração do curso do tratamento, como se pode apreciar no quadro 4.

QUADRO 3

Junho/1950	Unidades de penicilina por ml	
	Sôro sanguíneo	Liquor
D i a		
6 .....	0,24	0
9 .....	0,12	0
10 .....	0,32	0
12 .....	0,32	0
13 .....	0,16	0
14 .....	0,28	—
15 .....	0,16	0
17 .....	0,28	0

C) PENICILINA G PROCAÍNA — 600.000 u. diluídas em 2 ml de água bidestilada, via intramuscular, cada 24 horas. Dois pacientes submetidos a êsse esquema de tratamento foram aproveitados para as dosagens de penicilina. As amostras de sangue e de liquor foram obtidas 24 horas após cada injeção de penicilina.

1.º Caso — A. F. O., registro H. C. n.º 172.662, já mencionado anteriormente.

Os resultados das dosagens da penicilina estão no quadro 5.

2.º Caso — S. V. S., registro H. C. n.º 148.995, com 37 anos. Tabo-paralisia. Repouso relativo no leito. Injeções intraglúteas, alternando-se os lados. Houve boa tolerância à penicilina.

Os resultados das dosagens se encontram no quadro 6.

QUADRO 4

Maio/1950	Unidades de penicilina por ml.	
D i a	Sêro sanguíneo	Liquor
10 .....	0,45	—
11 .....	0,18	—
12 .....	0,16	—
13 .....	0,32	—
15 .....	0,24	—
16 .....	0,26	0
17 .....	0,16	—
18 .....	0,16	—
19 .....	0,06	—
20 .....	0,16	—
23 .....	0,26	0
24 .....	0,18	—
25 .....	0,26	—
26 .....	0,14	—
28 .....	0,06	—
29 .....	0,14	—
30 .....	0,20	0
31 .....	0,22	—

QUADRO 5

Abril/1950	Unidades de penicilina por ml	
D i a	Sêro sanguíneo	Liquor
19 .....	0	0
20 .....	0	0
21 .....	0,06	0
22 .....	0	0
23 .....	0	0
24 .....	0	0
25 .....	0,06	0
26 .....	0,06	—
27 .....	0	—
28 .....	0,08	—
29 .....	0	—

QUADRO 6

Maio/1950	Unidades de penicilina por ml	
	Sôro sanguíneo	Liquor
10 .....	0,10	---
11 .....	0	---
12 .....	0,12	---
13 .....	0	---
15 .....	0,06	---
16 .....	0,06	0
17 .....	0	---
18 .....	0	---
19 .....	0	---
20 .....	0	---
22 .....	0,12	---
23 .....	0	---
24 .....	0	---
25 .....	0	---
26 .....	0,04	---
28 .....	0,06	---
29 .....	0,06	---
30 .....	0	0
31 .....	0,06	---

Nesse esquema de 600.000 u. de penicilina procaínica, cada 24 horas, considerando-se os dois pacientes referidos, foram feitas 30 dosagens de penicilina no sangue e 9 no liquor. No primeiro caso, das 11 determinações no sôro sanguíneo, 3 foram iguais a 0,06 u. por ml e uma a 0,08, enquanto os demais resultados foram negativos.

No segundo caso, das 19 determinações sanguíneas, apenas em 9 vezes foi verificada a presença de penicilina cujos títulos variaram de 0,04 a 0,12 u. por ml.

A média dos títulos de penicilina foi de 0,031 u. por ml  $\pm$  0,039.

Em 9 pesquisas feitas no líquido cefalorraquidiano não foi encontrada penicilina.

D — PENICILINA G CRISTALINA — 50.000 u. por via intramuscular, de 3 em 3 horas. Dêsse esquema de tratamento foram aproveitados cinco pacientes. As amostras de sangue e de liquor foram colhidas momento antes de administrar a dose seguinte de penicilina.

1.º Caso — A. H. S., registro H. C. n.º 104.206, com 43 anos. Neurolues parenquimatosa. Repouso relativo no leito. O período de tratamento durou 29 dias. Durante a primeira metade do tratamento 50.000 u. de penicilina foram diluídas em 2,5 ml de água bides-tilada e no restante do tratamento o volume do diluente foi de 1 ml.

Os resultados obtidos estão contidos no quadro 7.



2.º Caso — L. N., registro H. C. n.º 177.493, com 40 anos. Neurolues meningovascular. Hemiparesia direita. T. A: 110 x 70. Repouso relativo no leito. As 50.000 u. de penicilina foram diluídas em 1 ml de água bidestilada. As dosagens de penicilina foram feitas a partir do 8.º dia de tratamento. Os resultados figuram no quadro 8.

QUADRO 7

Maio-junho/1950	Unidades de penicilina por ml		MI de diluente
D i a	Sôro sanguíneo	Liquor	
25.....	0,06	—	2,5
28.....	0	—	2,5
29.....	0,06	0	2,5
30.....	0,06	—	2,5
31.....	0,12	0	2,5
1.....	0,08	0	2,5
2.....	0,06	0	2,5
3.....	0,06	0	2,5
5.....	0,12	0	2,5
6.....	0,08	—	2,5
7.....	0,12	0	2,5
9.....	0,12	0	1,0
10.....	0,12	0	1,0
12.....	0,08	0	1,0
13.....	0,06	0	1,0
14.....	0,12	0	1,0
15.....	0,06	0	1,0
19.....	0,06	0	1,0
20.....	0,06	0	1,0
21.....	0,12	0	1,0
22.....	0,06	0	1,0

QUADRO 8

Junho/1950	Unidade de penicilina por ml		Volume de diluente
D i a	Sôro sanguíneo	Liquor	ml
10.....	0,22	0	1,0
12.....	0,28	0	1,0
13.....	0,32	0	1,0
14.....	0,16	0	1,0
15.....	0,24	—	1,0
19.....	0,28	0	1,0
20.....	0,12	—	1,0
21.....	0,28	0	1,0
22.....	0,26	0	1,0

3.º Caso — T. F. C., registro H. C. n.º 65.595, com 18 anos, sexo feminino. Neurolues congênita. Repouso relativo no leito. Foram colhidas amostras de sangue e de liquor 8 vêzes em dias diferentes. A diluição das 50.000 u. de penicilina foi feita em 2,5 ml de água bidestilada nas 6 primeiras injeções e nas 2 últimas em 1 ml. A paciente foi malarizada no início do tratamento, o primeiro acesso febril se manifestou antes da penúltima dosagem de penicilina. No segundo acesso febril, que coincidiu com a última dosagem de penicilina, a paciente apresentava temperatura de 38.ºC. Os resultados se acham no quadro 9.

QUADRO 9

Junho/1950	Unidades de penicilina por ml		Volume de diluente
D i a	Sôro sanguíneo	Liquor	ml
15.....	—	0	2,5
16.....	—	0	2,5
17.....	0,08	0	2,5
20.....	0,06	0	2,5
21.....	0,06	0	2,5
22.....	0	0	2,5
26.....	0,12	0	1,0
27.....	0	0	1,0

4.º Caso — H. H. B., registro H. C. n.º 178.727, com 47 anos. Tabes e osteoartropatia da coluna vertebral. Densidade da urina : 1.028. T. A. : 150 x 110. Repouso relativo no leito. As 50.000 u. de penicilina foram diluídas em 1 ml de água bidestilada. Foram feitas oito dosagens de penicilina em onze dias de tratamento. Os resultados se encontram a seguir no quadro 10.

QUADRO 10

Junho/1950	Unidades de penicilina por ml	
Dia	Sôro sanguíneo	Liquor
12.....	0,06	0
13.....	0,06	0
14.....	0,06	0
15.....	0,06	0
19.....	0,06	0
20.....	0,06	0
21.....	0,06	0
22.....	0,06	0

5.º Caso — R. T., registro H. C. n.º 121.220, com 48 anos. Meningocefalite luética difusa. T. A : 110 x 70. Densidade da urina : 1.025. Repouso relativo no leito. As 50.000 u. de penicilina foram diluídas em 1 ml de água bidestilada. Foram feitas 3 dosagens de penicilina em seis dias de tratamento. Paciente malarizado, sendo as duas últimas dosagens feitas na vigência de acessos febris. Os resultados estão expostos no quadro 11.

QUADRO 11

Junho/1950	Unidades de penicilina por ml	
D i a	Sêro sanguíneo	Liquor
22 .....	0,06	0
26 .....	0,06	0
27 .....	0,12	0

Nesse esquema de tratamento com 50.000 u. de penicilina G cristalina, aplicado a quatro pacientes, com 38 dosagens no sêro sanguíneo, excluídas as dosagens do paciente L. N., registro H. C. n.º 177.493 com níveis elevados, por provável insuficiência renal, a média dos títulos de penicilina foi de 0,071 u. por ml  $\pm$  0,033.

Em 43 pesquisas de penicilina no liquor, feitas 3 horas após cada injeção, todos os resultados foram negativos.

Das 38 dosagens de penicilina, no sêro sanguíneo, houve 15 em que a penicilina injetada foi diluída em 2,5 ml de água bidestilada e 23 em que a diluição foi em 1 ml dêsse veículo.

Nas 15 dosagens, com a diluição em 2,5 ml, a média dos títulos de penicilina foi de 0,068 u. por ml.

Nas 23 dosagens em que se injetou penicilina diluída em 1 ml, a média foi de 0,074 u. por ml.

E — PENICILINA G CRISTALINA — 100.000 u., por via intramuscular, de 3 em 3 horas. Êsse esquema de tratamento foi analisado em 2 pacientes. As colheitas de sangue e de liquor foram feitas momento antes de cada injeção de penicilina.

1.º Caso — G. P., registro H. C. n.º 176.258, com 39 anos. Paralisia geral progressiva. Densidade da urina : 1.025. T. A. 140x80. Repouso relativo no leito. Em 19 dias de tratamento foram feitas 16 dosagens. Nas 10 primeiras dosagens as 100.000 u. de penicilina injetadas foram diluídas em 5 ml de água bidestilada e nas 6 últimas a diluição foi em 2 ml. Os resultados se encontram no quadro 12.

2.º Caso — R. T., registro H. C. n.º 121.220. Caso referido anteriormente. As doses de 100.000 u. de penicilina foram diluídas em 5 ml de água bidestilada. Os resultados se apresentam no quadro 13.

Nesse esquema de tratamento com 100.000 u. de penicilina G cristalina aplicado a dois pacientes, com 19 dosagens no sangue, a média dos títulos de penicilina foi de 0,121 u. por ml  $\pm$  0,087.

As 16 pesquisas de penicilina no liquor foram tôdas negativas.

QUADRO 12

Maio-Junho/1950	Unidades de penicilina por ml	
D i a	Séro sanguíneo	Liquor
28.....	0,12	—
29.....	0,12	0
30.....	0,12	—
31.....	0,12	0
1.....	0,12	0
2.....	0,06	0
3.....	0,12	0
5.....	0,12	0
6.....	0,12	0
7.....	0,12	0
10.....	0,12	0
11.....	0,12	0
12.....	0,06	0
13.....	0,06	0
14.....	0,12	0
15.....	0,12	—

QUADRO 13

Junho/1950	Unidades de penicilina por ml	
D i a	Séro sanguíneo	Liquor
17.....	0,16	0
20.....	0,28	0
21.....	0,12	0

#### PESQUISA DA PENICILINA NO LIQUOR E NO SANGUE EM INTERVALOS DE TEMPO INFERIORES AOS DOS ESQUEMAS TERAPÊUTICOS.

Neste capítulo relatamos as pesquisas de penicilina no liquor e as dosagens no sangue em intervalos de tempo inferiores aos períodos em que se

repetem as injeções nos esquemas de tratamento com penicilina procaínica ou cristalina.

A — PENICILINA G PROCAÍNA — 600.000 u., por via intramuscular, cada 24 horas. Foram aproveitados, para estudo, dois pacientes que estavam em tratamento na Clínica Neurológica do H. C.

1.º Caso — A. F. O., registro H. C. n.º 172.662, dados pessoais já referidos.

A primeira dosagem de penicilina no sangue, colhido 6 horas após a injeção de 600.000 u., revelou o teor de 0,56 unidade por ml e a dosagem no dia seguinte, 7 horas após a aplicação de penicilina, o título sanguíneo foi de 0,47 unidade por ml. Em amostras de liquor, colhidas na mesma ocasião que as de sangue, a pesquisa de penicilina foi negativa.

2.º Caso — J. M. S., registro H. C. n.º 196.916, com 22 anos. Paralisia geral progressiva oligossintomática. T. A: 115 x 65. Densidade da urina: 1.015.

Foi feita injeção intradeltóide de 600.000 u. de penicilina G. procaína, diluídas em 2,4 ml de água bidestilada. Paciente em decúbito lateral direito com agulha provida de mandril, introduzida na região suboccipital (cisterna magna) e outra, também dotada de mandril, mantida numa das veias da prega do cotovêlo.

Os resultados das dosagens de penicilina são expostos no quadro 14.

B — PENICILINA G CRISTALINA — 100.000 u. dissolvidas em 2 ml de água bidestilada.

Foram analisados dois pacientes, sendo a penicilina injetada por via intramuscular num deles e por via intravenosa no outro.

QUADRO 14

Horas após a injeção	Unidades de penicilina por ml	
	Sôro sanguíneo	Liquor
½.....	1,20	—
1.....	1,70	—
2.....	1,70	0
3.....	1,28	0
4.....	1,28	0
5.....	1,20	0
6.....	0,80	0

1.º Caso — G. P., registro H. C. n.º 175.258, dados pessoais já referidos. Injeção intradeltóide de 100.000 u. de penicilina G cristalina potássica. Paciente em decúbito lateral direito com agulha

provida de mandril, introduzida na região suboccipital onde permaneceu durante 5 horas. Amostras de sangue e de liquor foram colhidas ao mesmo tempo. Os resultados das dosagens figuram no quadro 15.

QUADRO 15

Horas após a injeção	Unidades de penicilina por ml	
	Sêro sangüíneo	Liquor
1/2 .....	1,70	0
1 .....	0,65	0
2 .....	0,28	0
3 .....	0,12	0
4 .....	0,06	0
5 .....	0,06	0

2.º Caso — E. A., registro H. C. n.º 89.861, dados pessoais já referidos. Injeção intravenosa de 100.000 u. de penicilina G cristalina potássica. Paciente em decúbito lateral com agulha provida de mandril, introduzida na região suboccipital onde permaneceu durante 5 horas. Amostras de sangue e de liquor foram retiradas simultaneamente para as dosagens de penicilina cujos resultados se encontram no quadro 16.

QUADRO 16

Horas após a injeção	Unidades de penicilina por ml	
	Sêro sangüíneo	Liquor
1/4 .....	8,80	0
1/2 .....	8,80	0
1 .....	2,20	0
2 .....	0,26	0
3 .....	0,12	0
4 .....	0,06	0
5 .....	0,06	0

## CONCLUSÕES FINAIS

1) — A variação de temperatura ocasionada pelo uso mui frequente de uma geladeira comum não altera, significativamente, os títulos de penicilina em amostras de sangue conservadas até 76 horas.

2) — Amostras de sangue, mantidas em temperatura ambiente até 40 minutos, não revelaram diminuição significativa nos títulos de penicilina.

3) — No esquema de tratamento com 300.000 u. de penicilina G procaína cada 24 horas, aplicado a dois pacientes, de 26 dosagens no sôro sanguíneo, feitas 24 horas após cada injeção, em dias sucessivos foi encontrada penicilina apenas 3 vezes, com título igual a 0,06 u. por ml.

Nas 7 amostras de liquor suboccipital, colhidas 24 horas após cada injeção, não se encontrou penicilina.

4) — No esquema de tratamento com 300.000 u. de penicilina G procaína, cada 12 horas, em três casos, com 38 dosagens no sôro sanguíneo, 12 horas após cada injeção, a média dos títulos de penicilina foi de 0,223 u. por ml  $\pm$  0,117; sendo 0,06 u. por ml o menor valor encontrado (4 vezes) e o maior 0,64 u. (1 vez).

Em 22 pesquisas de penicilina no liquor, 12 horas após cada injeção, o resultado foi sempre negativo.

5) — No esquema de tratamento com 600.000 u. de penicilina G procaína, cada 24 horas, em dois casos, com 30 dosagens no sôro sanguíneo, 24 horas após cada injeção, a média dos títulos de penicilina foi de 0,031 u. por ml  $\pm$  0,039, havendo 17 determinações com título igual a zero.

Foram negativas 9 pesquisas de penicilina no liquor 24 horas após cada injeção do antibiótico.

6) — No esquema de tratamento com 50.000 u. de penicilina G cristalina, por via intramuscular, de 3 em 3 horas, em cinco pacientes, com 38 dosagens no sôro sanguíneo, 3 horas após cada injeção, a média dos títulos de penicilina foi de 0,071 u. por ml,  $\pm$  0,033.

Em 43 pesquisas de penicilina no liquor, feitas 3 horas após cada injeção, todos os resultados foram negativos.

7 — Os níveis sanguíneos de penicilina mantêm-se mais elevados empregando-se pequenos volumes de diluente.

8 — No esquema de tratamento com 100.000 u. de penicilina G cristalina, por via intramuscular, de 3 em 3 horas, em dois pacientes, com 19 dosagens no sôro sanguíneo, 3 horas após cada injeção, a média dos títulos de penicilina foi de 0,121 u. por ml  $\pm$  0,087.

As 16 pesquisas de penicilina no liquor feitas 3 horas após cada injeção, foram tôdas negativas.

9) — Em dois pacientes, que receberam 600.000 u. de penicilina G procaína, não se revelou penicilina no líquido cefalorraquidiano, em pesquisas feitas entre 2 e 7 horas após a injeção do antibiótico.

10) — Em dois pacientes aos quais se injetaram 100.000 u. de penicilina G cristalina, num deles por via intramuscular, e, no outro, por via intravenosa, não foi encontrada penicilina no liquor, em pesquisas feitas desde 15 minutos até 5 horas após a administração do antibiótico.

11) — Os níveis de penicilina não foram influenciados pela longa duração do tratamento, indicando não haver efeito cumulativo nem aumento da eliminação do antibiótico, injetado sob a forma cristalina ou procaínica.

12 — A interferência de vários fatores tais como: repouso no leito, quantidade de líquidos administrados (PENNA, ASHCAR e VIOTTI 1948), vascularização da região atingida pela injeção de penicilina (TRUMPER e THOMPSON 1946), permeabilidade renal, (CROSSON e outros 1947), febre, etc., explica a variabilidade de títulos sanguíneos de penicilina obtidos em pacientes diferentes, submetidos ao mesmo esquema terapêutico e no mesmo paciente, em dias diferentes.

#### RESUMO

Os A. A. fizeram dosagens de penicilina no sangue e pesquisa no líquido a fim de verificar se, em neuroluéticos, o esquema clássico de tratamento com 50.000 a 100.000 u. de penicilina G cristalina, por via intramuscular, de 3 em 3 horas, poderia ser substituído pela administração, mais prática e econômica, de penicilina G procaína na dose de 300.000 a 600.000 u. cada 24 horas.

Dêses esquemas experimentados, o que revelou títulos sanguíneos de penicilina mais elevados e uniformes, no fim de cada período de administração, foi o de 300.000 u. de penicilina G procaína cada 12 horas. Nas mesmas condições o esquema de 600.000 u. de penicilina G procaína, cada 24 horas, mostrou títulos de penicilina inferiores aos de 100.000 e 50.000 u. de penicilina G cristalina, por via intramuscular, de 3 em 3 horas.

Os A. A. não encontraram penicilina no líquido cefalorraquidiano, empregando êses esquemas terapêuticos.

#### SUMMARY

The variation of temperature caused by the constant employment of a common refrigerator does not change, considerably levels in blood samples stored up to 76 hours.

Blood samples maintained at room temperature during 40 minutes did not show significative decrease in the penicillin levels.

Dosages of penicillin in the blood and research in the liquor were made in order to verify if in the neuroluetics the classical scheme of treatment of 50,000 to 100,000 i. u. of crystalline penicillin G, by intramuscular route, every three hours, could be substituted by a more practical and economical administration of procaine penicillin G, in the 24-hour dose of 300,000 to 600,000 i. u.

300,000 i.u. of procaine penicillin were given intramuscularly, to two patients, every 24 hours. In 26 dosages made 24 hours after each injection, penicillin was found only three times, the titer having been 0.06 u. per ml. No penicillin was present in seven samples of suboccipital liquor taken 24 hours after each injection.

300,000 u. of procaine penicillin G were given to three patients, every 12 hours. In 38 dosages made in blood serum 12 hours after each injection the titers mean of penicillin was 0.223 u. per ml  $\pm$  0.117; (0.06 u. per ml being the lowest value found (four times) and the highest 0,64 i. u. (once).



In 23 tests of penicillin in the liquor made 12 hours after each injection the result was always negative.

600,000 u. of procaine penicillin G were given to two patients every 24 hours. In 30 dosages made 24 hours after each injection the titers mean of serum penicillin was 0.031 u. per ml  $\pm$  0.039, 17 determinations having been negative. Nine tests of penicillin in liquor, 24 hours after each injection, were negative.

50,000 i. u. of crystalline penicillin G were administered intramuscularly to five patients, every three hours. In 38 dosages made 3 hours after each injection the titers mean of serum penicillin was 0.071 u. per ml  $\pm$  0.033. In 43 determinations of penicillin in the liquor made 3 hours after the injection all the results were negative.

The blood levels of penicillin stay higher by the use of small amounts of the solvent.

100,000 i. u. of crystalline penicillin G were given to two patients, intramuscularly, every 3 hours. In 19 dosages made 3 hours after each injection the titers mean of penicillin was 0.121 u. per ml  $\pm$  0.087. Sixteen tests of penicillin made in liquor, 3 hours after the injection, were negative.

No penicillin was found in the liquor of two patients administered with 600,000 i. u. of procaine penicillin G, when determined from 2 to 7 hours after the injection.

No penicillin was found in the liquor of 2 patients to whom 100,000 i. u. of crystalline penicillin G were injected either intramuscularly or intravenously, when determined from 15 minutes to 5 hours after the administration of the antibiotic.

The blood levels of crystalline or procaine penicillin were not influenced by the long period of the treatment, thus showing that there is neither accumulative effect of the antibiotic nor increase of the capacity of elimination of the drug.

In several patients treated with the same therapy the variability of penicillin levels blood is explained by interference of lying in bed, quantity of liquids administered, vascularization of the injected region and renal permeability.

From these proved schemes, the one which showed higher and more uniform serum titers, at the end of each period of administration, was that one of 300,000 i. u. of procaine penicillin G, every 12 hours. In the same conditions, the scheme of 600,000 i. u. of procaine penicillin G, every 24 hours, showed inferior titers of penicillin to those of 100,000 and 50,000 i. u. of crystalline penicillin G, by intramuscular route, every 3 hours.

#### BIBLIOGRAFIA

- BOGER, W. P.; BAKER, R. B. e WILSON, W. W. — 1948 — Penicillin in cerebrospinal fluid following parenteral penicillin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **68** : 101-106.
- BOGER, W. P. e WILSON, W. W. — 1949 — Rapid Attainment of Therapeutic Penicillin Concentration in the Cerebrospinal Fluid. *Am. Jour. Med. Sci.*, **217** : 593-599.

- CARNS, H. — 1947 — Discussion on Penicillin in Neurology. Penicillin in Suppurative Conditions of the Brain. Proc. Roy Soc. Med., 40 : 681 (Resumo em Arch. Neurol. Psychiatry, 1950, 63 (4) : 666-667).
- CANNON, A. B. L. — 1947 — Penicillin in Sesame Oil and Wax. Observation on Delayed Absorption in Sixty-Five Patients. J. Invest. Dermat., 9 : 255. (Resumo em J. Syph. Gon. Dis., 1949, 33 : 96).
- CROSSON, J. W., BOGER, W. P., SHAW, C. C. e MILLER, A. K. — 1947 — Caronamide for Increasing Penicillin Plasma Concentrations in Man. J. Am Med. Ass., 134 : 1528-1532.
- FLEMING, A. — 1942 — In Vitro Tests of Penicillin Potency. Lancet, 1 : 732-733.
- KINSMAN, J. M. e D'ALONZO, C. A. — 1946 — The Penetration of Penicillin Through Normal and Inflamed Meninges. New England Jour. Med. 234 : 459-463.
- MC DERMOTT, W. e NELSON, R. A. — 1945 — The Transfer of Penicillin into the Cerebrospinal Fluid Following Parenteral Administration. Am Jour. Syph Gon. Ven. Dis., 29 : 403 (Resumo em Arch. Neurol. Psychiatry, 1947, 57 (5) : 634).
- PENNA, D. O. ; ASHCAR, H. e VIOTTI, M. R. — 1948 — Penicilina G Procaína : Níveis Sanguíneos e Ação Terapêutica. 8 : 48-77.
- REDFEARN, J. W. T. e ELITHORN, A. — 1949 — Penicillin in the Cerebrospinal Fluid Lancet, 2 (6580) : 652-657.
- SCHIMMEL, N., WILSON, W. W., MATEUCCI, W. W., e FLIPPIN, H. F. — 1952 — The Hydriodide of Diethylaminoethylester Penicillin-G Neopenil, III : Unusually High Penicillin Concentrations in Cerebrospinal Fluid Following Intramuscular Administration. Am. Jour. Med. Sci., 224 : 247-251.
- SMITH, R. H. F. — 1951 — Permeability of the Blood-Brain Barrier to Penicillin in Cases of Parenchymatous Neurosyphilis. Jour. Mental Science, 97 (407) : 340-361.
- TRUMPER, M. e THOMPSON, G. J. — 1946 — Prolonging the Effects of Penicillin by Chilling. Jour. Am. Med. Ass., 130 : 627-630.
- WRIGHT, R. D., THAYER, J. D., NICHOLSON, F. P. e ARNOLD, R. C. — 1951 — Penicillin Levels in Spinal Fluid after Intramuscular Injection of Procaine Penicillin. Jour. Ven. Dis. Inform., 32 (2) : 39-42.



# NÍVEIS DE PENICILINA NO LIQUOR APÓS A ADMINISTRAÇÃO PARENTERAL DE ALTAS DOSES DE PENICILINA G CRISTALINA

por

HOMERO PINTO VALLADA

*Médico Auxiliar da Clínica Neurológica \**

e

HASSIB ASHCAR

*Médico-chefe da Seção de Micologia \*\**

## INTRODUÇÃO

Em trabalho anterior (1953), os autores não tendo encontrado penicilina no liquor de neuroletúcticos submetidos a vários esquemas de tratamentos em que figuravam, entre outros, o de 100.000 u. de penicilina G cristalina intramuscular, de 3 em 3 horas, e o de 600.000 u. de penicilina G procaína cada 24 horas, procuraram pesquisar êste antibiótico no liquor empregando doses mais altas de penicilina.

Já com êsse mesmo propósito vários autores, MAC DERMOTT e NELSON (1945), REDFEARN e ELITHORN (1949), SCHIMMEL e colab. (1952) fizeram pesquisas de penicilina no liquor após administração de penicilina G cristalina, em doses que variaram de 300.000 u. e, em alguns casos, até 1.000.000 ou 2.000.000 de unidades.

## MATERIAL E MÉTODO

As amostras de líquido cefalorraquidiano e de sangue venoso foram obtidas de pacientes da Clínica Neurológica, Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (Serviço do Prof. Adherbal Tolosa).

O método de dosagem de penicilina foi o biológico das diluições seriadas em tubo, processo de FLEMING (1942), empregando o *Staphylococcus aureus* H, como germe de prova.

O menor título de penicilina dosável por êste método é o de 0,04 u. por ml. Êsse título é obtido quando o ponto de leitura se dá no primeiro tubo da série de diluições no qual se diluem, em volumes iguais, meio de cultura e líquido cefalorraquidiano. Como referimos em trabalho anterior (1953), níveis líquóricos de penicilina inferiores a 0,04 u. por ml, poderiam ser deter-

---

\* Do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Serviço do Prof. Adherbal Tolosa).

\*\* Da Diretoria de Microbiologia e Diagnóstico do Instituto Adolfo Lutz.  
Entregue para publicação em 25 de novembro de 1953.

minados pelo emprêgo de meio de cultura cinco vêzes mais concentrado e usando-se o próprio liquor como veículo diluidor. Com êste recurso técnico foi possível determinar títulos liquóricos até o valor mínimo de 0,016 u. por ml.

#### DOSES DE PENICILINA ADMINISTRADAS E TÍTULOS LIQUÓRICOS OBTIDOS

Nesse trabalho foram utilizados dois grupos de pacientes.

1.º grupo : constituído de 9 pacientes que receberam, por via intramuscular, doses de penicilina G cristalina, que variaram de 300.000 u. a 1.000.000 u. Êstes pacientes apresentavam afecções neurológicas diferentes que serão referidas na apresentação particular de cada caso.

2.º grupo : compreendendo cinco pacientes, todos neuroléticos, aos quais foram administrados, por via intramuscular ou intravenosa, doses de penicilina G cristalina, que variaram de 200.000 a 500.000 u.

#### PRIMEIRO GRUPO

Este grupo é constituído por pacientes que foram aproveitados em observações preliminares a fim de se conhecerem as doses de penicilina injetadas, necessárias para vencerem a barreira hemoliquórica.

1.º Caso — B.A., registro H.C. n.º 169.681, com 25 anos de idade. Polioencefalite subaguda inferior. Foram aplicadas, no músculo deltóide, 300.000 u. de penicilina G cristalina. 5 horas após o liquor suboccipital retirado não acusava presença de penicilina. Nessa ocasião o título sanguíneo de penicilina foi igual a 0,06 u. por ml.

2.º Caso — A.H.S., registro H.C. n.º 104. 206, com 43 anos de idade. Neurolues parenquimatosa e lepra tuberculóide. Foram injetadas, no músculo deltóide, 300.000 u. de penicilina G cristalina, diluídas em 3 ml de água bidestilada. 4,30 horas após foi retirado liquor suboccipital, não tendo sido encontrada penicilina.

O nível sanguíneo, 5 horas após a injeção, era de 0,16 u. por ml.

3.º Caso — H.M., registro H.C. n.º 179.981, com 35 anos de idade. Polinevrite tóxica? Poliradiculoneurite? 500.000 u. de penicilina G cristalina, diluídas em 1 ml de água bidestilada, foram injetadas no músculo deltóide. Parte da solução foi perdida durante a injeção. 4 horas após o liquor suboccipital acusava título de penicilina superior a 0,02 u. por ml. Nessa ocasião o título sanguíneo era de 0,55 u. Na 6.ª hora após a injeção o nível sanguíneo era de 0,12 u. por ml e no liquor suboccipital já não mais se encontrava penicilina.

4.º Caso — N.M., registro H.C. n.º 178.897, com 45 anos de idade. T.A. 110 x 80. Nevralgia de glossofaríngeo. 500.000 u. de penicilina G cristalina, diluídas em 1 ml de água bidestilada, foram injetadas por via intramuscular, na região deltóide. 2 horas após a injeção, a dosagem de penicilina, no liquor suboccipital, revelou nível superior a 0,02 u. por ml, enquanto no sangue, à mesma ocasião, o título foi de 3,8 u. por ml. 4,20 horas após a injeção, o título de penicilina, no liquor, já revelava título inferior a 0,02 u. e, no sangue, 0,65 u. por ml. 6,30 horas após, não se encontrava mais penicilina no liquor e o título sanguíneo era de 0,22 u. por ml.

5.º Caso — A.P., registro H.C. n.º 23.005, com 44 anos de idade. Densidade da urina 1.023. Alcoolismo crônico. Neuropatia múltipla periférica. Foram aplicadas, no músculo deltóide, 500.000 u. de penicilina G cristalina, diluídas em 3 ml de água bidestilada. 4 horas após o título de penicilina, no liquor suboccipital, foi de 0,06 u. por ml e no sangue venoso 1.20 u. por ml.

6.º Caso — S.F., registro H.C. n.º 172.230, com 44 anos de idade. T.A. 140 x 95. Hematomielia traumática. Injeção intradeltóide de 500.000 u. de penicilina G cristalina, diluídas em 3 ml de água bidestilada. 4,30 horas após o liquor suboccipital apresentava o teor de 0,014 u. de penicilina por ml e 0,32 u. no sangue.

7.º Caso — H.H.D., registro H.C. n.º 178.727, com 47 anos de idade. Densidade da urina 1.014. T.A. 100 x 65. Tabes dorsal. 500.000 u. de penicilina G cristalina, diluídas em 1 ml. de água bidestilada foram injetadas na região deltóide. 3 horas após o liquor suboccipital acusava 0,033 u. de penicilina por ml e o sangue 0,28. Na 4.ª hora o liquor acusava, ainda, o título de 0,033 u. por ml. 8 horas após a injeção, já não se encontrava penicilina no liquor.

Nesse mesmo paciente, por outra via, isto é, intravenosamente, foram injetadas 500.000 u. de penicilina G cristalina diluídas, também, em 1 ml de água bidestilada. Os resultados obtidos se encontram no quadro 1.

## QUADRO 1

500.000 u. de penicilina G cristalina por via intravenosa

HORAS APÓS A INJEÇÃO	Unidades de penicilina por ml	
	Liquor suboccipital	Sêro sanguíneo
0,30.....	0,12	5,00
1,10.....	0,06	1,50
2,15.....	0,04	1,60
3,15.....	0	0,18
4,15.....	0	0,06

8.º Caso — R.B.F., registro H.C. n.º 85.755, com 46 anos de idade. T.A. 110 x 65. Síndrome neuroanêmica. Injeção intradeltóide de 1.000.000 u. de penicilina G cristalina, diluídas em 3 ml de água bidestilada. 5 horas após a injeção o liquor suboccipital acusava 0,033 u. de penicilina por ml e o sangue 1,28 u.

9.º Caso — O.B.L., registro H.C. n.º 119.328, com 35 anos de idade. Gliose bulbo-protuberancial? T.A. 120 x 80. Injeção intradeltóide de 1.000.000 de u. de penicilina G cristalina diluídas em 3 ml de água bidestilada. A dosagem de penicilina no liquor, 4 horas após a injeção, revelou o teor de 0,06 u. por ml e, nesse tempo, o sangue apresentava o título de 1,34.

## SEGUNDO GRUPO

Compreende este grupo cinco observações, sendo duas de pacientes que receberam, cada um, 200.000 u. de penicilina G cristalina e três em que a dose injetada foi de 500.000 u.

As doses de 200.000 u. foram experimentadas, por ter sido demonstrado, na neurolues, por KALZ e colab. (1941) e SMITH (1951), e, nos processos inflamatórias das meninges por KINSMAN e D'ALONZO (1946), que a barreira hemoliquórica oferece menor resistência à passagem de substâncias medicamentosas ou não, introduzidas na circulação geral.

1.<sup>a</sup> Obs. — J.M., registro H.C. n.º 200.587, com 50 anos de idade. Exame de urina: densidade 1.010. Proteínas = 1,5 g por litro. Uréia no sangue, 64 mg por 100 ml. Neurolues meningo-vascular. Arteriosclerose.

Injeção intradeltóide de 200.000 u. de penicilina G cristalina dissolvidas em 1 ml de água bidestilada. Paciente em decúbito lateral direito. Foram introduzidas duas agulhas com mandril no espaço subaracnóideo, uma na região suboccipital e outra na lombar. Amostras de liquor das duas referidas regiões e de sangue venoso foram colhidas, ao mesmo tempo, para as dosagens de penicilina cujos resultados se encontram no quadro 2.

QUADRO 2

200.000 u. de penicilina G cristalina por via intramuscular

HORAS APÓS A INJEÇÃO	Unidades de penicilina por ml		
	Liquor suboccipital	Liquor lombar	Sêro sanguíneo
0,30 .....	0,06	0,06	2,56
1,00 .....	0,06	0,06	6,00
2,00 .....	0,12	0,12	5,00
3,00 .....	0,14	0,12	5,12
4,00 .....	0,12	0,12	2,56
5,00 .....	0,12	0,12	1,70
6,40 .....	—	—	1,84
7,40 .....	—	—	1,10
8,40 .....	—	—	0,77

Os elevados títulos liquóricos e sanguíneos de penicilina, encontrados neste caso, poderiam ser explicados por diminuição da permeabilidade renal conforme BOGER e WILSON (1949). Não houve diferenças significativas entre as dosagens nos liquores suboccipital e lombar.

2.<sup>a</sup> Obs. — M.S., registro H.C. n.º 94.420, com 20 anos de idade. Miopatia por arterite luética. Densidade da urina 1.020. T.A. 110 x 78. Injeção intravenosa de 200.000 u. de penicilina G cristalina, diluídas em 1 ml de água bidestilada. Duas agulhas com mandril foram introduzidas, uma na região suboccipital e outra na lombar. Paciente em decúbito lateral direito. Os resultados das dosagens de penicilina, no sangue e no liquor, colhidos ao mesmo tempo, se acham no quadro 3.

QUADRO 3

200.000 u. de penicilina G cristalina por via intravenosa

HORAS APÓS A INJEÇÃO	Unidades de penicilina por ml		
	Liquor suboccipital	Liquor lombar	Sêro sanguíneo
1/4.....	0	0	5,12
1/2.....	0,06	0	1,30
1.....	0,06	0	0,45
2.....	0	0	0,14
3.....	0	0	0,06
4.....	0	0	0,06
5.....	0	0	0

Como no caso anterior, a penicilina foi encontrada, no liquor 30 minutos após a injeção, entretanto, sua permanência foi pouco duradoura, não sendo dosável na segunda hora.

3.<sup>a</sup> Obs. — J.M., registro H.C. n.º 200.587, com 50 anos de idade. Neurolues meningovascular. Arteriosclerose. Ex. urina: densidade 1.010; proteínas 1,58 por litro. Uréia no sangue: 64 mg por 100 ml.

Esse paciente, em observação anterior, recebeu 200.000 u. de penicilina e para comparação de resultados, com dose maior, foram-lhe aplicadas, por via intramuscular, 500.000 u. de penicilina G cristalina, diluídas em 1 ml de água bidestilada.

QUADRO 4

500.000 u. de penicilina G cristalina por via intramuscular

HORAS APÓS A INJEÇÃO	Unidades de penicilina por ml		
	Liquor suboccipital	Liquor lombar	Sêro sanguíneo
0,20 (20 minutos).....	—	0,06	—
0,25.....	0,06	—	—
0,30.....	—	—	5,12
0,40.....	—	0,06	—
1,00.....	0,12	0,12	9,80
2,00.....	0,14	0,06	10,00
3,00.....	0,12	0,12	9,90
4,00.....	0,12	0,12	5,12
5,00.....	0,12	0,12	2,80
6,00.....	—	—	2,48
7,00.....	—	—	1,28
8,00.....	—	—	1,20
9,00.....	—	—	0,67



O paciente permaneceu em decúbito lateral direito durante 5 horas, com duas agulhas, providas de mandril, introduzidas, uma na região suboccipital e outra na lombar. Amostras de liquor e de sangue foram colhidas para as dosagens cujos resultados se apresentam no quadro 4.

Os títulos sanguíneos apresentaram, de modo geral, valor duplo, comparativamente aos obtidos com a administração de 200.000 u. de penicilina.

Os elevados e duradouros níveis de penicilina no sangue e no liquor parecem ser explicados por diminuição da permeabilidade renal, como já foi referido.

4.<sup>a</sup> Obs. — J.M.S., registro H.C. n.º 196.916, com 22 anos de idade. Neurolues meningovascular. Densidade da urina 1.015. T.A. 115 x 65. Injeção intradeltóide de 500.000 u. de penicilina G cristalina, diluídas em 2 ml de água bidestilada. Paciente em decúbito lateral direito, com agulha provida de mandril introduzida na região suboccipital. Foram retiradas amostras de liquor e de sangue venoso cujos títulos de penicilina figuram no quadro 5.

Q U A D R O 5

500.000 u. de penicilina G cristalina por via intramuscular

HORAS APÓS A INJEÇÃO	Unidades de penicilina por ml	
	Liquor	Sêro sanguíneo
0,30.....	—	11,0
1,00.....	—	17,0
2,00.....	—	15,00
2,45.....	0,06	—
4,00.....	0,06	0,85
5,00.....	0,033	0,67
6,00.....	0,038	0,24
7,00.....	—	0,06

Nesse mesmo paciente, para termo de comparação, dois dias depois, foram injetadas intravenosamente 500.000 u. de penicilina G cristalina, diluídas em 2 ml de água bidestilada. O paciente, com agulha provida de mandril, introduzida na região suboccipital, manteve-se nas mesmas condições anteriores. Os resultados das dosagens de penicilina no liquor e no sangue são os do quadro 6.

Pela comparação das séries de dosagens, dos quadros n.ºs 5 e 6, observamos que a permanência de penicilina no liquor, foi pouco duradoura (ausente na 3.<sup>a</sup> hora), quando injetada por via intravenosa, enquanto que, administrada por via intramuscular, a penicilina foi encontrada no liquor até a 6.<sup>a</sup> hora. Por sua vez os títulos sanguíneos mantiveram-se consideravelmente mais elevados depois da 3.<sup>a</sup> hora na administração intramuscular, o que sugere o uso desta via para a penicilinoterapia.

QUADRO 6

500.000 u. de penicilina G cristalina por via intravenosa

HORAS APÓS A INJEÇÃO	Unidades de penicilina por ml	
	Liquor	Sêro sanguíneo
½ .....	—	17,0
1 .....	0,06	5,12
2 .....	0,06	0,64
3 .....	0	0,32
4 .....	0	0,14
5 .....	0	0,06
6 .....	0	0,06

5.<sup>a</sup> Obs. — E.A.E., registro H.C. n.º 196.867, com 59 anos de idade. Mielopatia por arterite luética. Ex. urina : densidade 1.012 ; proteínas totais 0,05 g por litro. T.A. 140 x 70. Foram injetadas, intravenosamente, 500.000 u. de penicilina G cristalina, diluídas em 1 ml de água bidestilada. Agulhas munidas de mândril, introduzidas nas regiões suboccipital e lombar do paciente, em decúbito lateral direito. Os títulos de penicilina no liquor e no sangue se acham no quadro 7.

QUADRO 7

500.000 u. de penicilina G cristalina por via intravenosa

HORAS APÓS A INJEÇÃO	Unidades de penicilina por ml		
	Liquor suboccipital	Liquor lombar	Sêro sanguíneo
0,18 .....	0,06	0	20,48
0,38 .....	0,06	0,06	10,24
1,00 .....	0,14	0,06	10,00
2,00 .....	0,12	0,12	2,56
3,00 .....	0,12	0,12	1,28
4,00 .....	0,12	0,12	0,64
6,00 .....	—	—	0,28
7,00 .....	—	—	0,14
8,00 .....	—	—	0,06

Nesse caso devemos assinalar a rapidez do aparecimento da penicilina no liquor suboccipital, 18 minutos após a injeção intravenosa de 500.000 u. de penicilina G cristalina.

## CONCLUSÕES

1 — A penicilina foi dosável no liquor de neuroluéticos, com a aplicação de 200.000 u. de penicilina G cristalina por via intramuscular ou intravenosa.

2 — A diminuição da permeabilidade renal, retardando a eliminação da penicilina, condiciona títulos liquóricos e sanguíneos mais elevados e duradouros.

3 — Há ligeira antecedência no aparecimento da penicilina no liquor suboccipital, em relação ao lombar, quando se injetam 500.000 u. de penicilina G cristalina por via intramuscular ou intravenosa.

4 — Não há diferença, sob o ponto de vista prático, na rapidez do aparecimento da penicilina no liquor, quer injetada por via intramuscular, quer por via intravenosa. 20 minutos após a injeção intramuscular ou intravenosa de 500.000 u. de penicilina G cristalina dissolvidas em 1 ou 2 ml de água bidestilada, já aparece penicilina no liquor.

5 — A permanência no liquor, de penicilina injetada por via intramuscular, é, significativamente, mais duradoura, do que injetada por via intravenosa.

6 — 500.000 u. de penicilina G cristalina diluídas em 1 ou 2 ml de água bidestilada e injetadas intramuscularmente, deram, em neuroluéticos, no mínimo, títulos liquóricos de 0,06 u. por ml, durante 4 horas e títulos sanguíneos de 0,24 u. por ml, durante 6 horas.

7 — 1.000.000 de u. de penicilina G cristalina, dissolvidas em 3 ml de água bidestilada, injetadas por via intramuscular, em dois pacientes, não neuroluéticos, acusaram títulos liquóricos relativamente pouco mais elevados do que com a administração de 500.000 u. em outros pacientes também não neuroluéticos.

#### RESUMO

Os Autores dosaram penicilina no liquor de 13 pacientes, distribuídos em dois grupos, neuroluéticos e não neuroluéticos, os quais receberam, por via parenteral doses de penicilina G cristalina que variaram de 200.000 a 1.000.000 de u. O método empregado, nas dosagens de penicilina, foi o biológico de Fleming. As conclusões obtidas se encontram no final deste trabalho.

#### SUMMARY

Penicillin was administered to two groups of patients either neuroluetics or not, which received by parenteral route, dosages of crystalline penicillin G, that varied from 200,000 to 1.000.000 i. u.

There were studied thirteen patients.

The Fleming's biological method was employed in the dosages of penicillin.

1 — Dosages of penicillin were found in the liquor of neuroluetics, with the administration of 200,000 i. u. of crystalline penicillin G, by intramuscular or intravenous routes.

2 — The decrease of the renal permeability, delaying the penicillin elimination, keeps higher and more lasting liquor and blood levels.

3 — Rapid antecedence is verified in the penicillin appearing in the suboccipital liquor related to the lumbar one, when 500.000 i. u. of crystalline penicillin G are injected either intramuscularly or intravenously.

4 — On the practical point of view, there is no difference in the swiftness of the penicillin appearing in the liquor, injected either intramuscularly or intravenously. Penicillin already appears in the liquor, 20 minutes after the intramuscular or intravenous injections of 500,000 i. u. of crystalline penicillin G dissolved in 1 or 2 ml of distilled water.

5 — The penicillin permanence in the liquor, injected intramuscularly, is significantly more lasting than when injected intravenously.

6 — 500,000 i. u. of crystalline penicillin G, injected intramuscularly, and dissolved in 1 or 2 ml of distilled water gave, at least, in neuroleuetics, liquorical levels of 0.06 u. per ml, during 4 hours and blood levels of 0.24 u. per ml for 6 hours.

7 — 1,000,000 i. u. of crystalline penicillin G administered intramuscularly to two patients not neuroleuetics, and dissolved in 3 ml of distilled water, accused relatively a little higher liquorical level than with the administration of 500.000 i. u. in other patients also not neuroleuetics.

#### BIBLIOGRAFIA

- BOGER, W. P. e WILSON, W. W. — 1949 — Rapid Attainment of Therapeutic Penicillin Concentration in the Cerebrospinal Fluid. *Am. Jour. Med. Sci.*, **217** : 593-599.
- FLEMING, A. — 1942 — In Vitro Tests of Penicillin Potency. *Lancet*, **1** : 732-733.
- KALZ, F. e outros — 1946 — Permeability of Blood-Spinal Fluid Barrier in Infants and in Normal and Syphilitic Adults. *Arch. Neurol. Psychiatry*, **56** (1) : 55-63.
- KINSMAN, J. M. e D'ALONZO, C. A. — 1946 — The Penetration of Penicillin Through Normal and Inflamed Meninges. *New England Jour. Med.* **234** : 459-463.
- Mc DERMOTT, W. e NELSON, R. A. — 1945 — The Transfer of Penicillin into the Cerebrospinal Fluid Following Parenteral Administration. *Am. Jour. Syph. Gon. Ven. Dis.*, **29** : 403 (Resumo em *Arch. Neurol. Psychiatry*, 1947, **57** (5) : 634.
- REDFEARN, J. W. T. e ELTHORN, A. — 1949 — Penicillin in the Cerebrospinal Fluid. *Lancet*, **2** (6580) : 652-657.
- SCHIMMEL, N. e outros — 1952 — The Hydriodide of Diethylaminoethylester Penicillin — G, Neophenil, III : Unusually High Penicillin Concentrations in Cerebrospinal Fluid Following Intramuscular Administration. *Am. Jour. Med. Sci.* **224** : 247-251.
- SMITH, R. H. F. — 1951 — Permeability of the Blood-Brain Barrier to Penicillin in Cases of Parenchymatous Neurosyphilis. *Jour. Mental Science*, **97** (407) : 340-361.
- VALLADA, H. P. e ASHCAR, H. — 1953 — Dosagem de penicilina no sangue e pesquisa no liquor de neuroleuéticos tratados com penicilina procainica ou cristalina. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, **13** 113-130.



# PERMANÊNCIA DE PENICILINA NO LIQUOR E SUA PASSAGEM PARA O SANGUE APÓS ADMINISTRAÇÃO POR VIA LOMBAR OU SUBOCCIPITAL

por

HOMERO PINTO VALLADA

*Médico Auxiliar da Clínica Neurológica \**

e

HASSIB ASHCAR

*Médico-chefe da Seção de Micologia \*\**

## INTRODUÇÃO

Alguns autores, RAMMELKAMP e KEEFER (1943) estudaram a absorção, excreção e toxidez da penicilina administrada por via intratecal, em pacientes não neuro-luéticos. Ulteriormente, WEICKHARDT (1946) e GOLDMAN (1949) empregaram a penicilina, pela referida via, no tratamento de neuro-luéticos.

A finalidade precípua dêste trabalho foi de observar, em pacientes neuro-luéticos, o tempo em que a penicilina permanece dosável no liquor e sua absorção, passagem da penicilina para o sangue, após injeção por via lombar ou suboccipital.

## MATERIAL E MÉTODO

As amostras de líquido cefalorraquidiano e de sangue foram obtidas de pacientes pertencentes ao serviço do Prof. Adherbal Tolosa, Clínica Neurológica do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo.

As dosagens de penicilina foram feitas na Seção de Micologia da Diretoria de Microbiologia e Diagnóstico do Instituto Adolfo Lutz. Foram colhidos, em média, 4 ml de liquor ou 10 ml de sangue venoso para cada dosagem de penicilina.

O método de dosagem de penicilina foi o biológico das diluições seriadas em tubo, processo de Fleming (1942), sendo usado como germe de prova a amostra de *Staphylococcus aureus* H.

\* Do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Serviço do Prof. Adherbal Tolosa).

\*\* Da Diretoria de Microbiologia e Diagnóstico do Instituto Adolfo Lutz.

Entregue para publicação em 15 de dezembro de 1953.

## CASOS OBSERVADOS

Nessas pesquisas foram utilizados 7 pacientes, que receberam, por via subaracnóidea, 30.000 u. de penicilina G cristalina, diluídas em 1 ml de água bidestilada.

1.º Caso — J.M.S., registro geral do H.C. n.º 196.916, com 22 anos, de idade. Paralisia geral progressiva, oligossintomática. Densidade da urina 1.015. T.A. 115 x 65. Foram injetadas 30.000 u. de penicilina G cristalina, por via suboccipital, com lenta barbotagem (aspirou-se 1 ml de liquor na seringa com solução de penicilina e injetou-se em seguida lentamente). Paciente em decúbito lateral direito, com agulha provida de mandril, introduzida na região suboccipital durante 5 horas. 8 horas depois da injeção de penicilina fêz-se nova colheita de liquor suboccipital.

Não houve náuseas, vômitos, cefaléia, mal estar nem outras reações desagradáveis. Os resultados das dosagens de penicilina foram os do quadro 1.

## QUADRO I

30.000 u. de penicilina G cristalina por via suboccipital

Horas após a injeção	Unidades de penicilina por ml	
	Liquor suboccipital	Sêro sangüíneo
1 .....	128	0,24
2 .....	120	0,06
3 .....	64	0,06
4 .....	62	0,06
5 .....	42	0,06
8 .....	14	0

Na 5.ª hora após a injeção de penicilina, para contróle da difusão da mesma, foi colhido liquor lombar cujo título foi de 128 unidades por ml, enquanto, nessa ocasião, o título no liquor suboccipital era, como vimos, de 42 unidades. Parece que êsse título mais baixo se explica pela difusão normal da penicilina no liquor e pelas retiradas sucessivas de liquor, suboccipital, contendo êsse antibiótico, para as necessárias dosagens.

2.º Caso — M.S., registro geral do H.C. n.º 99.420, com 20 anos de idade. Mielopatia por arterite luética. Densidade da urina 1.028. T.A. 110 x 78.

Foram injetadas 30.000 u. de penicilina G cristalina por via suboccipital. A paciente permaneceu em repouso no leito, e não apresentou náuseas nem outros distúrbios dignos de nota. Encontram-se os resultados das dosagens de penicilina no quadro 2.

Desejamos assinalar, nesse caso, a passagem rápida da penicilina para o sangue, 30 minutos após a injeção suboccipital. Nessa paciente, 15 dias depois, foi injetada a mesma dose de penicilina na região suboccipital. A paciente permaneceu em repouso no leito, apresentando sudorese e alguns

## QUADRO 2

30.000 u. de penicilina G cristalina por via suboccipital

HORAS APÓS A INJEÇÃO	Unidades de penicilina por ml	
	Liquor suboccipital	Sêro sanguíneo
½ .....	amostra não aproveitada	0,06
1 .....	amostra não aproveitada	0,06
8 .....	6,60	—

vômitos após a injeção. Por dificuldade em se atingir a cisterna magna, várias picadas foram feitas na região suboccipital.

Os resultados das dosagens de penicilina são os do quadro 3.

## QUADRO 3

30.000 u. de penicilina G cristalina por via suboccipital

HORAS APÓS A INJEÇÃO	Unidades de penicilina por ml	
	Liquor suboccipital	Sêro sanguíneo
4,00 .....	—	0,12
6,00 .....	—	0,06
8,00 .....	—	0,06
10,00 .....	—	0,06
11,40 .....	0,50	—
12,00 .....	—	0,06
24,00 .....	0,06	0

Procuramos, dessa vez, verificar por quanto tempo seria dosável a penicilina no sangue, e em que taxa seria encontrada no liquor, após 24 horas. Assinalamos o título sanguíneo de 0,06 de unidade por ml até a 12a. hora e o título liquórico de 0,06 após 24 horas.

3.º Caso — L.M., registro geral H.C. n.º 177.493, com 40 anos de idade. Neuroles meningovascular. Hemiparesia direita. Foram injetadas, lentamente, 30.000 u. de penicilina por via suboccipital. O paciente teve náuseas e vômitos 10 minutos após a injeção e permaneceu com mal-estar e cefaléia, até 4 horas depois. O sangue colhido, 1 hora após a injeção de penicilina, apresentou o título de 0,26 u. por ml e o liquor suboccipital colhido 8,30 horas após a injeção dosava mais de 1,28 u. por ml.



4.º Caso — M.M., registro geral do H.C. n.º 184.136, com 50 anos de idade. Neurolues. Impressão basilar. Klippel — Feil. Síndrome de Arnold e Chiari. Foram injetadas na região lombar, entre L4 e L5, com lenta barbotagem, 30.000 u. de penicilina G cristalina. Não houve fenômenos de intolerância após a injeção. O paciente permaneceu acamado durante 24 horas. Os resultados das dosagens de penicilina são os do quadro 4.

Q U A D R O 4  
30.000 u. de penicilina G cristalina por via lombar

HORAS APÓS A INJEÇÃO	Unidades de penicilina por ml	
	Liquor lombar	Sêro sanguineo
4,40.....	—	0,06
6,00.....	—	0,06
8,00.....	—	0,06
10,00.....	—	0,06
12,00.....	15,0	0,06
24,00.....	1,3	0

5.º Caso — E.A.E., registro geral do H.C. n.º 196.867, com 59 anos de idade. Mielopatia por arterite luética. Densidade da urina 1.012. T.A. 140 x60. Foram injetadas, no espaço subaracnóideo, entre L5 e S1, com lenta barbotagem, 30.000 u. de penicilina G cristalina. Não houve fenômenos de intolerância após a injeção. O paciente ficou acamado durante 36 horas, sendo as três primeiras horas imóvel em decúbito lateral direito, com agulha munida de mandril, introduzida no canal raquidiano. A agulha foi deixada, de propósito, obturando o orifício de penetração da mesma para que a penicilina, que se encontrasse no sangue, nas 3 primeiras horas, fôsse devida, tanto quanto possível à passagem natural da penicilina do liquor para o sangue. Os resultados das dosagens figuram no quadro 5.

Q U A D R O 5  
30.000 u. de penicilina G cristalina por via lombar

HORAS APÓS A INJEÇÃO	Unidades de penicilina por ml		
	Liquor lombar	Liquor suboccipital	Sêro sangüíneo
½.....	—	—	0,64
1.....	—	—	0,32
3(*).....	—	—	0,06
6.....	—	—	0,12
9.....	—	—	0,12
11,30.....	30	5,2	0,14
15.....	—	—	0,06
21.....	—	—	0,06
24.....	1,10	0,28	—
34.....	0,12	0,06	—

(\*) Logo após a esta colheita de sangue venoso foi retirada a agulha da região lombar.

30 minutos após a injeção de penicilina no canal raquidiano, esse antibiótico atingiu, no sangue, o título de 0,64 u. por ml, o que demonstra a passagem rápida e intensa para a circulação geral. Assinala-se a prolongada permanência de penicilina no liquor, dosável 34 horas após a injeção, e a supremacia dos títulos do liquor lombar sobre os do suboccipital, mostrando difusão liquórica, lenta, de penicilina, mesmo permanecendo o paciente em decúbito horizontal.

6.º Caso — J.A.B., registro geral do H.C. n.º 196.070, com 52 anos de idade. Tabes. Osteo-artropatia vertebral. Densidade da urina, 1.028. T.A. 150 x 110. Foram injetadas, com lenta barbotagem, na região suboccipital, 30.000 u. de penicilina G cristalina. Não houve reações desagradáveis, porém o paciente apresentou elevação de temperatura até 38.ºC. Foram introduzidas, no espaço subaracnóideo, 2 agulhas com mandril, uma na região suboccipital e outra na região lombar, onde permaneceram por 3 horas. O paciente ficou acamado durante 24 horas. Os resultados das dosagens de penicilina são os do quadro 6.

QUADRO 6

30.000 u. de penicilina G cristalina por via suboccipital

HORAS APÓS A INJEÇÃO	Unidades de penicilina por ml		
	Liquor suboccipital	Liquor lombar	Sêro sanguíneo
0,35 .....	>76	—	—
0,45 .....	—	0,60	0,06
1,00 .....	>76	—	0,06
3,00 .....	50	66	0,06
7,15 .....	—	—	0,06
8,30 .....	5	>20	0
24,00 .....	0,12	0,24	0

Devemos observar que, em condições de repouso idênticas ao caso anterior, a difusão liquórica da penicilina da cisterna magna para a região lombar, se faz muito mais rápida e intensamente do que em sentido contrário, isto é, da região lombar para a suboccipital.

7.º Caso — J.M., registro geral do H.C. n.º 200.587, com 50 anos de idade. Neurolues meningovascular. Arteriosclerose com insuficiência renal. Densidade da urina 1.010. Proteínas na urina 1,5 g por litro. Uréia no sangue : 64 mg por 100 ml. Foram injetadas 30.000 u. de penicilina, por via suboccipital, com barbotagem não muito lenta. O paciente teve náuseas e vômitos várias vezes desde 15 minutos até 2 horas depois. Foram colhidas várias amostras de sangue para as dosagens de penicilina e apenas 2 amostras de liquor, uma lombar e outra suboccipital, 36 horas após a injeção. Os resultados são os do quadro 7.

## Q U A D R O 7

30.000 u. de penicilina G cristalina por via suboccipital

HORAS APÓS A INJEÇÃO	Unidades de penicilina por ml		
	Sôro sanguíneo	Liquor suboccipital	Liquor lombar
¼ (15 minutos) .....	0,06	—	—
½ .....	0,14	—	—
1 .....	0,28	—	—
3 .....	0,28	—	—
6 .....	0,14	—	—
9 .....	0,12	—	—
15 .....	0,12	—	—
18 .....	0,12	—	—
21 .....	0,12	—	—
36 .....	—	0,06	0

Nesse caso, a influência do extravasamento do liquor contendo penicilina, através do orifício de punção, sobre os títulos sanguíneos, parece não ter sido significativa, apesar de não se ter deixado obturado com a própria agulha, o orifício de punção.

Note-se a rapidez com que a penicilina foi encontrada no sangue (15 minutos), quase igual ao tempo (18 minutos, mínimo pesquisado), para passar, em sentido contrário, do sangue para o liquor, conforme trabalho anterior dos autores (1953).

## CONCLUSÕES

1 — 30.000 u. de penicilina G cristalina injetadas no espaço subaracnóideo, lombar ou suboccipital, mantêm níveis terapêuticos, liquóricos, no mínimo até 24 horas.

2 — A difusão da penicilina se processa mais rapidamente, da região suboccipital para a lombar, do que em sentido oposto, estando o paciente deitado.

3 — A passagem da penicilina do espaço subaracnóideo para o sangue (absorção) se dá em 15 minutos, tempo mínimo pesquisado.

4 — A absorção da penicilina, (passagem do espaço subaracnóideo para o sangue) se processa rapidamente, quer injetada por via suboccipital, quer por via lombar.

5 — O aparecimento da penicilina no sangue, após a administração intratecal, parece depender, principalmente, de sua absorção natural e não da passagem eventual do liquor com penicilina, através do orifício de punção.

6 — Os títulos sanguíneos de penicilina, após administração por via intratecal, foram mais elevados e duradouros, no caso em que havia provável diminuição da permeabilidade renal.

## RESUMO

Os autores observaram o tempo de permanência da penicilina no liquor após administração, por via lombar ou suboccipital, de doses de 30.000 u. de penicilina G cristalina, em 7 pacientes neuroluéticos. Os autores observaram, também, que a passagem da penicilina do liquor para o sangue (absorção) se dá rapidamente (15 minutos) após administração por via suboccipital ou lombar. O método empregado nas dosagens de penicilina foi o biológico de Fleming (1942).

## SUMMARY

The time of permanence of penicillin in the liquor after the administration of 30.000 i. u. of crystalline penicillin G in seven neurological patients, by lumbar or suboccipital routes was observed. The penicillin passage from the liquor to the blood (absorption) is made rapidly (15 minutes) after the administration, by suboccipital or lumbar routes.

1 — 30.000 i. u. of crystalline penicillin G injected either in the subarachnoid, lumbar or suboccipital spaces, keep therapeutical levels, at least for 24 hours.

2 — The penicillin diffusion is more rapidly made from the suboccipital region to the lumbar one, than on the other way ; the patients must be put to bed.

3 — The penicillin passage from the subarachnoid space to the blood (absorption) is made in 15 minutes, which is the shortest tested time.

4 — The penicillin absorption (passage from the subarachnoid space to the blood) takes place rapidly either injected by suboccipital or lumbar routes.

5 — The penicillin appearing in the blood, after the intrathecal administration, seems to depend chiefly on its natural absorption, and not on the eventual passage of the liquor with penicillin through the puncture orifice.

6 — The penicillin blood levels, after the administration by intrathecal route, were higher and more lasting when there was the possibility of a decrease of renal permeability.

## BIBLIOGRAFIA

- BOGER, W. P. e WILSON, W. W. — 1949 — Rapid Attainment of Therapeutic Penicillin Concentration in the Cerebrospinal Fluid. *Am. Jour. Med. Sci.*, **217** : 593-599.
- FLEMING, A. — 1942 — In Vitro Tests of Penicillin Potency. — *Lancet*, **1** : 732-733.
- GOLDMAN, D. — 1949 — Neurosyphilis Treated with Penicillin. *Am. Jour. Med. Assoc.* **141** (7) : 431-438.
- RAMMELKAMP, C. H. e KEEFER, C. S. — 1943 — The Absorption Excretion and Toxicity of Penicillin Administered by Intrathecal Injection. *Am. Jour. Med. Sci.* **205** : 342-350.
- VALLADA, H. P. e ASHCAR, H. — 1953 — Níveis de penicilina no liquor após a administração de altas doses de penicilina G cristalina. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.* **13** : 131-140.
- WEICKHARDT, G. D. — 1946 — Intrathecal Administration of Penicillin in General Paresis — *Am. Jour. Syph. Gon. Ven. Dis.* **30** : 235-341.



# DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE MISTURA DE 5 ANALGÉSICOS E ANTIPIRÉTICOS

ERNESTO MILANESE

*Químico do Instituto Adolfo Lutz.*

Existem no mercado inúmeras especialidades farmacêuticas de associações de analgésicos e antitérmicos, com grande variedade de combinações e com a freqüente presença de anti-reumáticos, hipnóticos, anti-espasmódicos, anti-histamínicos e alcalóides, numa extensa gama de misturas. A Secção de Química Farmacêutica dêste Instituto defronta-se, na sua rotina, com os problemas que apresentam as análises de tais associações. Regra geral, são inaplicáveis, diretamente, os métodos de doseamento de cada constituinte na mistura integral. Impõe-se um estudo prévio de cada caso particular de mistura, para estabelecimento do processo a empregar numa preliminar separação dos componentes. Depois de completa revisão comparativa das propriedades físicas e químicas e métodos de doseamento dos constituintes, há freqüente necessidade de se realizarem ensaios em mistura — padrão, para se concluir da viabilidade e exatidão do processo delineado. A determinação das constantes físicas, a realização de reações de identificação e o doseamento dos componentes isolados deverão confirmar o acerto do processo empregado.

O presente trabalho foi executado na Secção de Química Farmacêutica dêste Instituto, como estudo prévio de uma análise, por nós realizada, em especialidade farmacêutica que apresentava a seguinte fórmula :

Antipirina (fenazona) .....	0,20 g
Dimetilaminoantipirina (Piramido) .....	0,20 g
Fenacetina (4-acetil-fenetidina) .....	0,15 g
Acetil-p-amino-salol (Salofeno) .....	0,10 g
Ácido 2-fenil-4-quinolinacarboxílico (Atofã) .....	0,05 g

Em uma cápsula amilácea

## PARTE EXPERIMENTAL

No presente caso, empregamos 2 processos de separação, com tomada de 0,70 g, correspondente a uma cápsula.

### 1.º PROCESSO

*Operação 1-Ácido 2-fenil-4-quinolinacarboxílico* — Considerando que todos os constituintes, numa extração em meio alcalino, passam ao clorofórmio, com exceção do ácido 2-fenil-4-quinolinacarboxílico, transferimos a tomada para um funil de separação de 125 cm<sup>3</sup>, juntamos 20 cm<sup>3</sup> de água

Entregue para publicação em 1.º de Dezembro de 1953.

destilada e cêrca de 1 g de carbonato ácido de sódio e extraímos com 30, 25, 20, 10, 10 e 10 cm<sup>3</sup> de clorofórmio. Estas extrações foram filtradas, através de algodão embebido em clorofórmio, para um bquer de 250 cm<sup>3</sup> e seu volume foi reduzido, por evaporação em B. M., acêrca de 20 cm<sup>3</sup> (fração 2). Esta fração foi separada para a operação 2.

O soluto aquoso (fração 1), mantido ainda no funil de separação, foi acidulado com ácido sulfúrico diluído e o ácido 2-fenil-4-quinolinacarboxílico foi extraído com 30, 25, 20, 10, 10 e 10 cm<sup>3</sup> de éter etílico, cujas porções foram filtradas, através de algodão embebido nesse solvente, para um bquer de 150 cm<sup>3</sup> prèviamente tarado. Todo solvente foi evaporado em B. M. e o resíduo foi pesado até pêsco constante, após dessecação em vácuo e sôbre cloreto de cálcio.

*Operação 2 — Dimetilaminoantipirina* — Tendo em vista que, sômente a dimetilaminoantipirina, numa extração em meio ácido, não passa ao clorofórmio, procedemos da seguinte maneira: a fração 2 (extração clorofórmica da operação anterior) foi transferida para um funil de separação de 125 cm<sup>3</sup>, lavando-se o bquer que a continha com 3 porções de 5 cm<sup>3</sup> de clorofórmio. Juntamos, no funil de separação, 20 cm<sup>3</sup> de ácido sulfúrico a 2 por cento. Agitamos fortemente, durante 10 minutos, para que a dimetilaminoantipirina passasse à solução ácida, e deixamos em repouso até completa separação das camadas. Filtramos a camada clorofórmica, através de algodão embebido em clorofórmio, para um bquer de 150 cm<sup>3</sup>. Efetuamos mais 6 extrações com 30, 25, 20, 10, 10 e 10 cm<sup>3</sup> de clorofórmio, cujas porções foram sendo filtradas para o bquer à proporção que o solvente foi sendo evaporado em B. M..

O resíduo resultante da evaporação de todo clorofórmio (fração 4) foi separado para a operação 3. A solução ácida (fração 3) foi alcalinizada com cêrca de 2 g de carbonato de sódio sêco. Em seguida, extraímos com 30, 25, 20, 10, 10 e 10 cm<sup>3</sup> de éter etílico, cujas porções foram transferidas, através de algodão embebido nesse solvente, para um bquer de 150 cm<sup>3</sup>, prèviamente tarado. Todo solvente foi evaporado em B. M. e o resíduo foi pesado até pêsco constante, após dessecação em vácuo e sôbre cloreto de cálcio.

*Operação 3 — Antipirina* — À fração 4 (extração clorofórmica da operação anterior) juntamos 10 cm<sup>3</sup> de água destilada fervente, no próprio bquer; esfriamos com água corrente e filtramos para um bquer de 250 cm<sup>3</sup>, através de algodão embebido em água destilada. Repetimos a operação duas vês com a mesma quantidade de água destilada e nas mesmas condições; finalmente, lavámos o filtro três vezes com 10 cm<sup>3</sup> de água destilada fria. O filtro, contendo fenacetina e acetil-p-amino-salol, foi reservado para a operação 4. Ao filtrado adicionamos 0,5 cm<sup>3</sup> de ácido clorídrico diluído e 30 cm<sup>3</sup> de ácido silicotúngstico a 10 por cento, agitando. Após 24 horas, filtramos por papel e lavamos o filtro duas vês com 20 cm<sup>3</sup> de água destilada. O filtrado foi separado para a operação 4. O filtro e seu conteúdo (silicotungstato de antipirina) foram transferidos para um funil de separação de 125 cm<sup>3</sup>, ao qual adicionamos 30 cm<sup>3</sup> de hidróxido de sódio a 5 por cento. Extraímos com 30, 25, 20, 10, 10 e 10 cm<sup>3</sup> de clorofórmio e filtramos, através de algodão embebido nesse solvente, para um bquer de

150 cm<sup>3</sup>, previamente tarado. Todo solvente foi evaporado em B. M. e o resíduo pesado até peso constante, após dessecação em vácuo e sobre cloreto de cálcio.

*Operação 4 — Fenacetina* — O filtro, contendo fenacetina e acetil-p-amino-salol, foi lavado com 5 cm<sup>3</sup> de álcool etílico e 5 vezes com 10 cm<sup>3</sup> de clorofórmio, o total dos solventes foi recolhido num béquer de 150 cm<sup>3</sup> e evaporado, à secura, em B. M. A este mesmo béquer foi juntado e evaporado, à secura, todo solvente resultante da extração do filtrado do silicotungstato de antipirina com 25, 20, 10 e 10 cm<sup>3</sup> de clorofórmio. Ao resíduo total, no béquer, adicionamos 30 cm<sup>3</sup> de hidróxido de sódio a 2,5 por cento e aquecemos à fervura durante 5 minutos. Após resfriamento em água corrente, transferimos o líquido alcalino para um funil de separação de 125 cm<sup>3</sup>; lavamos o béquer duas vezes com 5 cm<sup>3</sup> de água, que passamos ao funil de separação. Extraímos com 30, 25, 20, 10, 10 e 10 cm<sup>3</sup> de clorofórmio, que foi totalmente transferido, através de algodão embebido nesse solvente, para um béquer de 250 cm<sup>3</sup>. O volume foi reduzido, por evaporação em B. M., acêrca de 20 cm<sup>3</sup>. Juntamos cêrca de 0,1 g de carvão animal purificado, deixando uma hora em contato e agitando de quando em vez. Filtramos por papel para um béquer de 150 cm<sup>3</sup>, previamente tarado; a este béquer também juntamos o total do solvente resultante da lavagem do béquer de 250 cm<sup>3</sup> e do filtro com 3 porções de 10 cm<sup>3</sup> de clorofórmio. Após a total evaporação do solvente em B. M., o resíduo foi pesado até peso constante, depois de dessecado em vácuo e sobre cloreto de cálcio.

*Operação 5 — Acetil-p-amino-salol* — O líquido alcalino, esgotado da fenacetina na operação anterior, foi acidulado com 5 cm<sup>3</sup> de ácido sulfúrico a 30 por cento. Extraímos o ácido salicílico com mistura de 3 volumes de éter de petróleo e 1 volume de éter etílico, até que cêrca de 0,5 cm<sup>3</sup> do líquido de extração não deixasse resíduo perceptível quando evaporado em vidro de relógio. Recolhemos as sucessivas porções de solvente, através de algodão embebido na mistura éter-éter de petróleo, em um béquer de 250 cm<sup>3</sup>. O volume foi reduzido por evaporação em B. M. acêrca de 20 cm<sup>3</sup> e juntamos, aproximadamente, 0,1 g de carvão animal purificado. Deixamos uma hora em contato, agitando de quando em vez. Filtramos por papel para um béquer de 150 cm<sup>3</sup>, previamente tarado, ao qual juntamos também o total do solvente resultante da lavagem do béquer de 250 cm<sup>3</sup> e do filtro com 3 porções de 20 cm<sup>3</sup> da mistura éter-éter de petróleo. O solvente foi totalmente evaporado em B. M. e o resíduo pesado até peso constante, após dessecação em vácuo e sobre cloreto de cálcio. O peso de ácido salicílico equivale a 51 por cento do peso de acetil-p-amino-salol.

## 2.º PROCESSO

As 3 primeiras operações foram as mesmas do 1.º processo.

*Operação 4 — Acetil-p-amino-salol* — Ao resíduo constituído de fenacetina e acetil-p-amino-salol adicionamos 30 cm<sup>3</sup> de ácido clorídrico a 5 por cento e mantivemos o líquido ácido em B. M. fervente durante 4 horas, mantendo o volume inicial por adições de água destilada quente. Após resfriamento, transferimos o líquido ácido para um funil de separação de



250 cm<sup>3</sup>, ao qual juntámos também o líquido resultante da lavagem do béquer com 2 porções de 10 cm<sup>3</sup> de água destilada. Extraímos com 30, 25, 20, 10, 10 e 10 cm<sup>3</sup> de clorofórmio e todo solvente foi transferido, através de algodão embebido em clorofórmio, para um béquer de 150 cm<sup>3</sup>, previamente tarado. O solvente foi totalmente evaporado em B. M. e o resíduo pesado até peso constante, após dessecação em vácuo e sobre cloreto de cálcio.

*Operação 5 — Fenacetina* — O líquido ácido esgotado de acetil-p-amino-salol na operação anterior foi alcalinizado com cerca de 3 g de carbonato de sódio seco; extraímos com 30, 25, 20, 10, 10 e 10 cm<sup>3</sup> de éter etílico; o total deste foi transferido, através de algodão embebido naquele solvente, para um béquer de 150 cm<sup>3</sup>, previamente tarado. Juntamos cerca de 1 cm<sup>3</sup> de anidrido acético e evaporamos, em B. M., à secura. Adicionamos, ao resíduo, 5 cm<sup>3</sup> de álcool metílico, que foi levado à secura. Repetimos a adição de 5 cm<sup>3</sup> de álcool metílico e a evaporação à secura. O resíduo foi pesado até peso constante, após dessecação em vácuo e sobre cloreto de cálcio.

#### DISCUSSÃO

Foram efetuados 3 determinações em cada um dos processos. A mistura empregada para estas determinações foi preparada com os constituintes, de comprovada pureza, dessecados durante 48 horas em vácuo e sobre cloreto de cálcio. O erro máximo verificado foi de 3 por cento. Foram efetuadas reações de identificação e determinados os pontos de fusão das substâncias isoladas.

Na operação 3, comum aos 2 processos, efetuamos a separação da antipirina valendo-nos:

1.º — da diferença de solubilidade na água à temperatura ambiente entre a antipirina, muito solúvel, o acetil-p-amino-salol, quase insolúvel e a fenacetina, muito pouco solúvel, análogamente ao método empregado por MIKO (1932), para separação de cafeína, dimetilaminoantipirina e fenacetina;

2.º — da precipitação, FULLER (1920), da antipirina pelo ácido silicotúngstico. Essa precipitação foi por nós verificada ser quantitativa, conforme trabalho que brevemente publicaremos.

O filtrado ácido obtido na filtração do silicotungstato de antipirina foi extraído, com clorofórmio, para recuperar pequenas quantidades de fenacetina e acetil-p-amino-salol dissolvidas com a antipirina, e permanecendo em solução após a precipitação desta última.

Na operação 4 do 1.º processo realizamos a separação da fenacetina pelo mesmo método inscrito no Official Methods of Analysis of the A. O. A. C., 1950, para separação de fenacetina e salol, considerando, no caso em aprêço, que o acetil-p-amino-salol hidrolisa-se com formação de acetato, salicilato e p-amino-fenol (OSOL e FARRAR, 1947). LEBEAU e COURTOIS (1946), referem-se, erroneamente, à presença de anilina entre os produtos da hidrólise do acetil-p-amino-salol, pelo hidróxido de sódio a 1/3. Nas operações 4 e 5 do 1.º processo, tornou-se necessário o descora-

mento dos líquidos de extração da fenacetina e do ácido salicílico devido à presença de substância corada, provavelmente originada pelo p-aminofenol.

Esse inconveniente foi afastado no 2.º processo. Neste, a separação do acetil-p-amino-salol foi realizada pela hidrólise ácida da fenacetina e posterior reacetilação da fenetidina (A. O. A. C., 1950); empregamos, entretanto, ácido clorídrico a 5 por cento por observarmos que não há, praticamente, alteração da fenetidina, o que ocorre, em parte, com o uso do ácido sulfúrico diluído, empregado no método citado. O acetil-p-amino-salol não sofre hidrólise pelos ácidos diluídos (SCHOORL, 1941).

#### RESUMO

O autor apresenta dois processos de determinação quantitativa de uma mistura de antipirina, dimetilaminoantipirina, fenacetina, acetil-p-amino-salol e ácido 2-fenil-4-quinolinacarboxílico, isolando, sucessivamente, numa mesma tomada :

a) o ácido 2-fenil-4-quinolinacarboxílico, por extração com clorofórmio dos restantes componentes, em meio alcalino ;

b) a dimetilaminoantipirina, por extração com clorofórmio, dos restantes componentes, em meio ácido ;

c) a antipirina, por sua solubilidade na água e formação de silicotungstato insolúvel na água ;

d) a fenacetina, por extração com clorofórmio, após hidrólise alcalina do acetil-p-amino-salol. Este foi calculado pelo peso de ácido salicílico formado por sua hidrólise alcalina e extraído após esgotamento da fenacetina. No 2.º processo, o acetil-p-amino-salol é separado da fenacetina por extração com clorofórmio, após hidrólise ácida desta última. A fenetidina, resultante desta hidrólise, é então extraída por éter etílico em meio alcalino e reacetilada.

#### SUMMARY

By two processes of quantitative determination of a mixture of antipyrine, aminopyrine, phenacetin, acetylparaminosalol, and 2-phenylquinoline-carboxylic acid, are isolated successively, in the same portion taken for the assay :

a) the 2-phenylquinoline-4-carboxylic acid by extraction with chloroform of the remaining components, in alkaline medium ;

b) the aminopyrine by extraction with chloroform of the remaining components, in acid medium ;

c) the antipyrine by its solubility in water and formation of silicotungstate which is insoluble in water ;

d) the phenacetin by extraction with chloroform, after the alkaline hydrolysis of acetylparaminosalol. This was calculated by the weight of salicylic acid formed by its alkaline hydrolysis and extracted after the exhaustion of phenacetin. In the second process, the acetylparaminosalol is separated from the phenacetin by the extraction with chloroform, after the acid hydrolysis of phenacetin. The resultant phenetidine of this hydrolysis is in such way extracted with ethylic ether in alkaline medium and by other acetylation, the phenacetin is reformed.

## BIBLIOGRAFIA

- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS — Methods of Analysis. 7th ed. Washington, A. O. A. C., 1950; 583.
- FULLER, H. C. — The Chemistry and Analysis of Drugs and Medicines. New York, John Wiley & Sons, 1920; 793.
- LEBEAU, P. e G. COURTOIS — Traité de Pharmacie Chimique. 3. ed., Paris, Masson et Cie., 1946; 3 : 1858.
- MIKO, M. J. — 1932 — Sur le dosage de la caféine, de l'amidopyrine et de la phénacétine en mélange. *Pharm. Zentr.* 33 : 179-181. Resumo em *J. Pharm. Chim.* 1934, 19 (8) : 509.
- OSOL, A. e G. E. FARRAR — The Dispensatory of the United States of America. 24th, ed. Philadelphia, J. B. Lippincott Company, 1947; 1549.
- SCHOORL, N. — 1941 — Quantitative saponification of nitrogen esters. *Pharm. Weelblad*, 78 : 433-435. (1941 — *Chem. Zentr. II* : 644). Resumo em *Chem. Abstracts* 1942, 36 : 3456.

# SÔBRE UM MÉTODO RÁPIDO PARA DETERMINAÇÃO DE CINZAS TOTAIS EM DROGAS

por

A. MELLO PEREIRA  
*Do Instituto Adolfo Lutz*

## INTRODUÇÃO

Na determinação de cinzas totais em drogas, apresenta especial interesse, seu método de execução e os resultados que o mesmo pode fornecer. A operação de incineração é aparentemente simples PERROT (1943-4), mas os que estão familiarizados com os processos de incineração da droga colocada diretamente em cápsula ou cadinho, sabem das dificuldades e principalmente do tempo dispendido.

Os métodos de incineração de drogas descritos em algumas farmacopéias modernas compreendem, fundamentalmente, duas ou três fases:

- A) incineração da droga diretamente em cápsula ou cadinho. Esfriar em dessecador e pesar;
- B) quando não fôr possível obter cinzas livre de carvão, esgotar o resíduo com água quente, recolher o resíduo insolúvel num papel de filtro de cinzas conhecidas; secar e incinerar o resíduo com o papel de filtro. Transferir o filtrado para a cápsula anterior, evaporar à secura e incinerar novamente. Esfriar em dessecador e pesar;
- C) se o material ainda permanecer com carvão, triturar a massa com bastão de vidro, juntar 15 cm<sup>3</sup> de álcool, queimar ou evaporar por aquecimento, incinerar, esfriar em dessecador e, finalmente, pesar.

Consultando compêndios como a Farmacopéia Paulista (1916), as Farmacopéias Portuguesas III (1876), IV (1946), as Farmacopéias Francêsas (1884), (1908), (1949), a Farmacopéia Italiana VI (1952), a Farmacopéia Belga IV (1947), e as Farmacopéias Americanas VII (1890) e VIII (1900), verificamos que as mesmas não inscreveram qualquer método de determinação de cinzas totais em drogas.

Apenas em sua IX edição a Farmacopéia Americana inscreveu um método para determinação de cinzas totais em drogas (ed. 1906), compreendendo as fases A e B. Com a X edição dessa Farmacopéia foi acrescentada a fase C ao mesmo método (ed. 1926), que desde então foi mantido inalterado nas edições seguintes (1936), (1942), (1943) e (1950).

A Farmacopéia Helvética (ed. 1941), inscreve método em que a incineração da droga é feita diretamente em cápsula ou cadinho.

Em linhas gerais, são idênticos ao método da Farmacopéia Americana XIV (fases A, B e C), os inscritos nas Farmacopéias Brasileira (ed. 1926) e Japonêsa (ed. 1952).

As Farmacopéias Britânicas (ed. 1948 e 1953) e a Farmacopéia Internacional (ed. 1951), incluem métodos compreendendo apenas as fases A e B, do esquema acima.

Vejam agora, rapidamente, as sugestões de vários autores, relativas aos métodos e aparelhos para incineração.

Os métodos usados para incinerar substâncias vegetais foram criticados por ALBAHARY (1908) e o mesmo propôs que a massa carbonizada fôsse incinerada à baixa temperatura, em corrente de oxigênio. STEWART e ARTHUR (1936), demonstraram que a variação de resultados em duplicatas e repetições de cinzas é menor quando efetuada em corrente de oxigênio a 450°C, do que quando mantida em mufla a 650°C por 8 e 16 horas. Apesar dessas observações, e, de, em alguns casos, o carvão ser tão dificilmente combustível que não se consegue uma combustão completa após longo tempo de aquecimento HAGER (1950), encontramos vários trabalhos: AHLQUIST (1922), EVERS (1949), KODRIK (1940), LOUW (1934), PATCH (1912) e PETERS (1909) em que foram empregados processos de incinerar a droga diretamente em cápsula ou cadinho de platina, de quartzo ou de porcelana.

Ainda para facilitar a combustão foi aconselhado (1950), embeber a massa carbonizada com um centímetro cúbico de ácido sulfúrico e depois incinerar cuidadosamente à baixa temperatura. Outro processo empregando substância química que facilita a combustão foi recomendado por BRIGGS (1939), e consta do emprêgo de uma solução de nitrato de magnésio em carbitol (éter monoetílico do dietileno glicol). Também a Association of Official Agricultural Chemists recomenda diferentes métodos para a determinação de cinzas em drogas. O primeiro método (1950), é o da incineração direta da droga em cadinho a 600°C por duas horas. O método seguinte (1950a), prevê uma secagem a 100°C, adição de algumas gotas de óleo de oliva puro e aquecer lentamente sobre chama. Incinerar em mufla a 525°C até que se obtenha cinzas brancas. O terceiro método (1950a), implica várias operações como esgotar o material carbonizado com água quente para dissolver os sais solúveis (e, em casos de produto de baixa pureza, adicionar, antes da incineração, algumas gotas de óleo de oliva puro). Filtrar em papel de cinzas conhecidas, secar e incinerar o resíduo e o papel. Evaporar e incinerar, novamente, a 525°C.

Com relação aos aparelhos ou dispositivos para facilitar a incineração, FORNET (1927), patenteou um cadinho com tampa provida de um tubo longo e fino por onde a substância é introduzida, sendo deslocada para o interior do cadinho à medida que se processa a incineração. Outro dispositivo interessante foi descrito por GUTBIER (1910), que idealizou uma tampa de cadinho com um septo vertical na face interna, e que quase atingia o fundo do mesmo, dividindo-o em duas câmaras iguais. Nessa tampa há dois orifícios, um para cada câmara. A fonte de calor é colocada sob uma das câmaras do cadinho, permitindo assim a circulação de uma corrente de ar.

Prevenindo pequenos acidentes como tocar o conteúdo da cápsula com a extremidade da pinça, KÖNIG (1929), sugeriu cápsulas de porcelana com pequena aba ou orelha externa, onde se deve fixar a pinça por ocasião de seu transporte.

Ars (1911), descreveu interessante aparelho para emprêgo em incineração lenta e determinação de cinzas em série. Consta de um tubo vertical,

cilíndrico, provido de três braços na extremidade superior, para suportar o cadinho ou cápsula; quase na extremidade inferior está montada uma roda, em posição horizontal, ligada por correia a uma turbina de água, de ar ou a um motor. O bico incinerador é colocado de lado, em posição oblíqua, de maneira que sua chama atinja a superfície lateral do cadinho que gira lentamente. Há possibilidade de se ligar alguns destes dispositivos ao mesmo motor.

Vemos, pois, que são várias as possibilidades de modificações dos métodos já existentes, requerendo, porém, material ou aparelhagem especial.

Este trabalho tem por finalidade escolher ou modificar um método para determinação de cinzas totais em drogas, como uma contribuição da Comissão de Padronização Farmacêutica de S. Paulo, para a futura edição da Farm. Bras. Por esta razão tivemos em vista encontrar um processo barato, de execução rápida, empregando material comum e que fornecesse resultados razoáveis para a rotina.

Os métodos que figuram nas Farmacopéias Brasileira (ed. 1926), Japonesa (ed. 1952), e Americana (ed. 1950), comportam as três fases do esquema que apresentamos no início desta introdução.

Quase sempre haverá necessidade de seguir a marcha completa (fases A, B e C), o que significa quatro incinerações para cada determinação, tempo necessário para resfriamento em dessecador, as operações acessórias de filtração e evaporação, não se contando ainda as incinerações necessárias para atingir peso constante. É, pois, evidente que uma determinação de cinzas totais torna-se muito demorada, podendo tomar um dia ou mais de trabalho.

Então tivemos nossa atenção voltada para a Farmacopéia Alemã VI (ed. 1950), que inscreveu um método que emprega areia lavada e calcinada para a incineração de drogas. MUSZYNSKI (1932), já trabalhara com areia em calcinação de drogas, mas foi BELLUCCI (1949), quem notou a rapidez de incineração com areia, recomendando o processo para incinerar materiais biológicos.

O efeito do grau de pulverização da substância a incinerar foi estudado por MALHOTRA (1930), que usou o tamis 60 com bons resultados para alguns frutos e legumes. ANSELMINO (1919), fez o mesmo com relação a diversas drogas, mas infelizmente não pudemos consultar seu trabalho. Não há dúvida que a pulverização da droga facilita sua combustão, e WILBERT (1911), acha que só fornecem resultados seguros as determinações feitas com droga pulverizada.

Como o método, por nós estudado, é baseado no inscrito na Farmacopéia Alemã VI (1926), fazemos em seguida a sua transcrição:

“Coloque num cadinho de porcelana, até aproximadamente um terço, areia do mar lavada. Calcine e pese depois de permanecer meia hora em dessecador.

A areia é lavada por digestão com ácido clorídrico e perfeita lavagem subsequente com água; em geral, em seguida, desseca-se e calcina-se.

Com uma quantidade de 0,5 até 2 g da substância que deve ser incinerada forma-se uma camada sobre a areia; pesa-se exatamente; mistura-se a substância com a areia por meio de um bastão de vidro ou de uma espátula de prata, os quais se limpam sobre o cadinho com auxílio das bar-

bas de uma pena. Inicia-se a combustão, com o cadinho em posição inclinada, passando uma chama tão pequena quanto possível, do bordo superior para o fundo do cadinho, à medida que se aumenta o tamanho da chama. Na maioria dos casos, procedendo desta maneira a incineração se realiza rapidamente sem perturbação alguma, e é reconhecida com facilidade pela cor da areia. Se a substância se queima com muita dificuldade, deixa-se esfriar; colocando o cadinho em posição inclinada, golpeia-se suavemente e se faz com que o conteúdo do mesmo deixe descoberto uma parte do fundo; colocam-se, uma à uma, V-X gotas de ácido nítrico fumegante; faz-se a areia voltar à posição horizontal e procede-se ao aquecimento sobre placa de amianto com uma chama muito pequena, calcinando, em seguida, a fogo direto. Depois, deixa-se esfriar o cadinho e mistura-se um pouco de ácido oxálico pulverizado; torna-se a calcinar por pouco tempo, e pesa-se, depois de permanecer meia hora no dessecador. O ácido oxálico juntado tem por finalidade converter, novamente, em carbonatos, os nitratos originados pela ação do ácido nítrico.

A areia pode servir sem interrupção para as incinerações”.

No capítulo seguinte descreveremos o método com as modificações por nós introduzidas, cujas vantagens serão expostas na parte de discussão e conclusões.

Não nos foi possível consultar vários trabalhos sobre cinzas ALFEND (1941), AZOR e THURSTON (1912), CHEVALIER (1931a), CLEVINGER e EWING (1919), FREY (1907), KONDO e KAWAMURA (1934), KROEBER (1931), LAMPA (1920), LEROUX e LEROUX (1919), MAINSBRECQ (1934), MULLER (1936), NEWCOMB (1915), SCHWALBE (1921), SEEBORG (1947), WINKLER (1932 e 1932a), WISLICENUS (1920), e de outros trabalhos sobre o mesmo assunto, publicados em “Journal of the Association of Official Agricultural Chemists”, volumes de 1916. Dos resumos publicados no “Chemical Abstracts” nada pudemos inferir no que se refere aos métodos empregados pelos autores citados.

Alguns métodos, estudos e aparelhos para microincineração são encontrados na literatura: PATRASSI (1930), SHOELLER (1922), SCOTT (1933), UBER e GOODSPEED (1935), e WERNER (1929); com sugestões para o controle de drogas: FIGDOR (1926), e seu emprêgo econômico na indústria; GESELL e DYTMAR (1925).

## PARTE EXPERIMENTAL

O método inscrito na Farmacopéia Alemã VI, após as modificações por nós introduzidas, tomou a redação seguinte:

Pese numa cápsula de porcelana de 7,5 cm de diâmetro, cerca de 10 g de areia lavada. Calcine, em mufla, a 600°C por meia hora. Resfrie, em dessecador, por meia hora. Tare a cápsula e pese cerca de 2 g da droga a ensaiar, em pó n.º 20. Misture perfeitamente a droga com a areia por meio de um bastão de vidro, seco. Limpe o bastão com um pequeno pincel seco. Coloque a cápsula em posição inclinada sobre um triângulo de porcelana. Inicie a combustão com chama pequena, passando, progressivamente, do bordo superior externo para o fundo da cápsula, à medida que se for aumentando o tamanho da chama. Proceda assim até completa carboniza-

ção, inclinando a cápsula, alternadamente, para os vários lados. Em seguida calcine, em mufla, à 600°C por 30-45 minutos. A incineração realiza-se facilmente, a qual se reconhece pela côr da areia. Em caso de combustão difícil, deixe a cápsula esfriar e desloque, com movimentos adequados ou por meio de um bastão de vidro, a areia e a parte carbonizada, homogeneizando-a no interior da cápsula. Limpe o bastão com um pincel seco. Calcine novamente até pêso constante. Na falta de mufla pode-se empregar bico de Bunsen ou outro equivalente”.

Efetuamos 90 determinações de cinzas totais, em nove lotes de drogas, compreendendo dez para cada lote, sendo cinco em mufla e cinco em bico Teclu, para efeito de comparação.

Nas determinações empregamos o material descrito no método, seguindo rigorosamente sua técnica. Tivemos sempre o cuidado de homogeneizar a amostra antes de se efetuar cada tomada de ensaio.

A areia por nós empregada foi a areia branca “Baker” de acôrdo com a exigências da Farmacopéia Americana XIV. O grau de fineza do pó n.º 20 está de acôrdo com o estipulado no 3.º suplemento (1951), da Farm. Bras. As incinerações em mufla, foram efetuadas em mufla elétrica provida de pirômetro com escala centígrada ( $\pm 5^\circ$ ).

Tôdas as determinações foram efetuadas com drogas sêcas ao ar e os resultados calculados nessa base.

No quadro seguinte encontram-se os resultados obtidos em cada série de determinações, com as demais indicações.

Lote n.º	Droga*	Resultado (%) Média de 5 deter- minações Incineração em		Diferença A (%)		Dife- rença M (%)	Observações
		Mufla 600° C	Bico Teclu	Mufla	Teclu		
1	Cacau	3,01	3,02	0,13	0,16	0,01	Sementes guardadas por 15 anos.
2	Cacau	2,96	3,00	0,08	0,15	0,04	Sementes recentes. Cruas:
3	Cacau	2,97	3,06	0,17	0,21	0,09	Sementes recentes. Torradas.
4	Valeriana	4,77	5,15	0,68	0,59	0,38	Únicamente rizomas.
5	Valeriana	5,47	5,38	0,80	0,81	0,09	Únicamente rizomas.
6	Valeriana	10,91	10,50	0,79	0,92	0,41	Únicamente raízes.
7	Beladona	11,19	11,43	0,83	0,46	0,24	Contendo frutos e inflorescências.
8	Mulungu	3,61	3,95	0,10	0,20	0,34	Cascas recentes.
9	Maracujá	12,24	12,25	0,50	0,39	0,01	Fólhas recentes.

\* Pó n.º 20.

A diferença A representa B-C, sendo B o valor máximo por cento e C o valor mínimo também por cento, encontrados em cada série de cinco determinações de um lote; M representa a diferença das médias.



## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Embora não se possa subestimar a importância da determinação de cinzas em drogas (MAINES, 1914), é necessário lembrar que, ao lado da variação mecânica das poeiras e areias, a proporção dos sais inorgânicos varia materialmente com as drogas (MEHRING 1924) e PATCH (1912).

Para PERROT a simples calcinação em temperatura tão baixa quanto possível, deixa um resíduo que não representa, exatamente, o conteúdo mineral da droga. Realmente, os carbonatos não são mais que o produto de transformação dos sais orgânicos; os elementos como o enxôfre ou o fósforo, que na realidade estavam sob forma orgânica, integrados em moléculas protéicas ou como o magnésio na clorofila, são depois mineralizados (PERROT, 1943-1944).

As fôlhas com pêlos glandulares, e ainda sua maior espessura quando jovens, podem, segundo TSCHIRCH (1916), causar forte adesão de poeiras e areias, acontecendo o mesmo com as raízes pilosas como a valeriana e a salsaparrilha.

Foi verificado por BRITON (1917), que a variação dos resultados de cinzas (até 3%), nos casos especiais do estramônio e da mangerona, tem por causa a grande volatilidade de certos componentes, à temperatura do vermelho sombrio.

Um caso de volatilização de sílica foi identificado como a causa de diferenças na determinação de cinzas da *Brassica cerunea* por LIEBENTHAL (1951).

Para CHEVALIER (1931), os limites de cinza carecem de base científica, desde que há variação dos conteúdos das drogas de acôrdo com o terreno, o clima, a época da colheita e se esta foi efetuada antes ou depois da floração. WILBERT (1912 e 1914), chama a atenção para as diferenças de resultados referidos na literatura, e NEWCOMB e HAYNES (1915), demonstraram o perigo de se excluir, por causa de limites farmacopéicos de cinzas, uma droga autêntica e de boa qualidade.

Para o nosso trabalho não interessa a questão dos limites, mas fazemos estas citações para mostrar a variação dos resultados em função de terrenos, climas, etc.

Naturalmente o limite deve existir, e não só por êle se deve julgar da autenticidade ou não de uma droga. Paralelamente ao limite designado, deve ser indicado um determinado método, LINTON (1913).

Passemos agora a examinar os fatores que podem ser relacionados ao método de determinação.

Na simplificação que efetuamos no método da F. Alemã VI, abandonando a adição de ácido nítrico e depois do ácido oxálico, tivemos em vista não só a simplificação do mesmo, como, também, evitar causas de êrro, pois LIVERSEGE (1922), constatou diferenças de quase oito por cento nas determinações de uma dada amostra de ruibarbo, atribuindo tais disparidades ao fato da droga ser muito rica em oxalato de cálcio, formando, durante a incineração, carbonato de cálcio, ou óxido de cálcio, ou, ainda, uma mis-

tura de ambos. De fato, em nossas experiências observamos a necessidade de maior número de calcinações para se obter pêsos constantes com a beladona, droga rica em oxalato de cálcio.

Ainda que GOEBEL (1931), tenha feito um estudo comparativo e econômico sobre a influência do material de que é feito o cadinho ou a cápsula, na incineração, concluindo que o melhor deles é a platina, e, depois pela ordem decrescente, a porcelana "Weta", a sílica e a porcelana comum, não pudemos deixar de trabalhar com a última e recomendá-la também, dadas as dificuldades de material importado entre nós.

Outra dificuldade para se obter resultados concordantes é a questão de se conseguir amostra representativa. Já RIPPETONE (1914), e RIPPETONE e MINOR (1913), procederam a vários ensaios, incluindo, também, a determinação de cinzas, em grande variedade de drogas, para obter o valor relativo das amostras. Nós não tivemos este problema, pois trabalhamos, sempre, com quantidade de cerca de 50 g de droga para cada lote, sendo fácil, portanto, praticar a homogeneização.

O fator decisivo para a escolha do método com areia, foi a enorme economia de tempo para a carbonização e para a incineração propriamente dita. Em média, o material estava bem carbonizado em cinco minutos, e bem incinerado em 30 minutos, quer quando operado em mufla ou quando operado em bico de gás. Contudo, achamos prudente dar intervalo de 30-45 minutos para a incineração propriamente dita.

O emprêgo da areia branca facilita muito o reconhecimento do fim da incineração tornando perceptível qualquer partícula de carvão. A mesma areia pode ser empregada até perfazer cinco determinações. Em geral, após esse número de incinerações, há quantidade suficiente de carbonato de cálcio para dar formação de grumos com a areia, e talvez fornecer resultados falsos. A areia usada deve ser transferida para um frasco e quando houver quantidade razoável, pode-se efetuar seu tratamento com ácido clorídrico, lavagem, etc., deixando-a em boas condições para novo emprêgo.

Como não estavam em condições satisfatórias as drogas que empregamos nas determinações (valeriana constituída unicamente pelas raízes ou constituída só de rizomas), não vamos comparar nossos resultados com os dos demais autores.

A finalidade da nossa parte experimental foi verificar a concordância ou não dos resultados, para provar o método em estudo. Assim, verificamos que os valores médios obtidos em mufla foram sempre ligeiramente inferiores aos obtidos por incineração em bico Teclu. Apenas o lote n.º 6 forneceu resultado obtido em mufla, superior em 0,4% ao resultado obtido em bico Teclu. Pode-se atribuir essa variação ao fato de termos empregado, para incineração em mufla, a parte inferior e final da droga. A variação do resultado médio, em mufla, para o lote n.º 5, foi insignificante.

As diferenças entre o maior e o menor resultado obtido em cada série de cinco determinações do mesmo lote, foram sempre inferiores a um por cento, quer nas determinações em mufla como nas efetuadas em bico Teclu.

Consideramos os resultados obtidos como ótimos, concluindo pelas vantagens e recomendações seguintes:

1) A droga misturada com a areia tem sua combustão muito facilitada pelos fatores seguintes :

- a) distribuição uniforme das partículas da droga a incinerar ;
- b) distribuição uniforme do calor ;
- c) facilidade de arejamento das porções médias e inferiores do conteúdo da cápsula (por afastamento temporário da mufla ou bico de gás) ;

2) O emprêgo da areia branca facilita muito o reconhecimento do fim da incineração e possibilita a percepção de qualquer partícula de carvão ;

3) A areia pode ser usada seguidamente até completar cinco determinações, quando se deve transferi-la para um frasco de areia usada. Posterior tratamento ácido, lavagem e calcinação, deixam-na em condições para novo emprêgo ;

4) Há enorme redução no tempo de carbonização (em média cinco minutos) ;

5) Grande redução no tempo de incineração pròpriamente dita (em média 30-45 minutos, tanto em mufla como em bico de gás) ;

6) O método fornece ótimos resultados para a rotina, desde que se faça perfeita homogeneização da amostra, antes de cada tomada de ensaio.

## RESUMO

No presente trabalho o autor fez uma revisão dos métodos para determinação de cinzas totais em drogas. São comparados os métodos de várias farmacopéias, compêndios e outras contribuições da literatura.

O autor aponta, especialmente, a dificuldade de se obter boa ignição de drogas em certos casos, os inconvenientes relativos ao número de operações e o longo tempo gasto em cada determinação. Transcreve o método de determinação de cinzas totais inserido na Farmacopéia Alemã VI, o qual emprega areia lavada e calcinada para facilitar a combustão. Apresenta em seguida uma simplificação do mesmo método, que pode ser executado tanto em mufla como em bico de Bunsen ou equivalente. Foi decisivo para a escolha do presente método a rapidez de carbonização e da incineração pròpriamente dita.

Por êsse método modificado, foram efetuadas 90 determinações de cinzas totais, em nove lotes de drogas, compreendendo dez determinações para cada lote, sendo cinco realizadas em mufla e cinco em bico Teclu. Tôdas as determinações foram efetuadas em drogas sêcas ao ar e os resultados calculados nessa base.

No quadro da página estão discriminados os resultados obtidos, juntamente aos demais dados.

Após descrever e comentar inúmeros fatores que podem influir sôbre os resultados das cinzas, o autor afirma que não se devem comparar os presentes resultados com os encontrados pelos demais autores. Isto porque as

drogas empregadas não se encontravam em condições satisfatórias (veja Observações no quadro acima), mas foram utilizadas para verificar a concordância ou não dos resultados fornecidos pelo método em experimentação.

Os valores médios obtidos em mufla foram ligeiramente inferiores aos obtidos por incineração em bico Teclu. Apenas o lote n.º 6 forneceu valor médio (em mufla) superior em 0,4% ao obtido em bico Teclu. Pode-se atribuir essa variação ao fato de empregarmos, para incineração em mufla, a parte inferior e final da droga. A diferença do lote n.º 5 foi insignificante.

As diferenças entre o maior e o menor resultado obtido em cada série de cinco determinações na mesma droga, foram sempre inferiores a um por cento, tanto nas determinações em mufla como nas realizadas em bico Teclu.

O autor considera como ótimos os resultados obtidos, concluindo pelas vantagens e recomendações seguintes.:

1) A droga misturada com a areia tem sua combustão muito facilitada pelos fatores seguintes.

- a) distribuição uniforme das partículas da droga a incinerar;
- b) distribuição uniforme do calor;
- c) facilidade de arejamento das porções médias e inferiores do conteúdo da cápsula (por afastamento da mufla ou do bico de gás);

2) O emprêgo de areia branca facilita muito o reconhecimento do fim da incineração e a percepção de qualquer partícula de carvão;

3) A areia pode ser usada, seguidamente, até cinco determinações, quando se deve transferi-la para um frasco de areia usada. Posterior tratamento ácido, lavagem com água e calcinação deixam-na em boas condições para novo emprêgo;

4) Há enorme redução no tempo de carbonização (dispendendo-se em média cinco minutos);

5) Grande redução no tempo da incineração propriamente dita (dispendendo-se, em média, 30-45 minutos, tanto em mufla como em bico de gás);

6) O método fornece ótimos resultados para a rotina, desde que se faça perfeita homogeneização da amostra, antes de cada tomada de ensaio.

## SUMMARY

In the present paper the author discusses the methods for determining total ashes of drugs. The methods from various Pharmacopoeias, abridgements and other literary contributions are compared.

The author points out specially the difficulties of incinerating the drugs in certain cases, the inconveniences as to the number of operations, and the long time taken up by every determination.

He relates the method from the German Pharmacopoeia VI, which uses washed and calcinated sand to facilitate the combustion. He then

indicates a simplification of this method which can be executed in a muffle, on a Bunsen burner or similar apparatus. The deciding factor in choosing the present method was the speed of combustion and true incineration.

By this modified method, 90 determinations of total ashes were executed on 9 lots of drugs, 10 determinations on every lot, 5 of these in a muffle and 5 on a Teclu burner. In all the cases the drug was air-dried and the results were calculated on this basis.

The following table shows the results obtained.

Lot n.º	Drug*	Result (%) Average of 5 determinations Incineration in		Difference A (%)		Difference M (%)	Remarks
		Muffle 600° C	Teclu burner	Muffle	Teclu		
1	Cocoa	3.01	3.02	0.13	0.16	0.01	Seeds 15 years old.
2	Cocoa	2.96	3.00	0.08	0.15	0.04	Recent raw seeds.
3	Cocoa	2.97	3.06	0.17	0.21	0.09	Recent roast seeds.
4	Valerian	4.77	5.15	0.68	0.59	0.38	Rhizomes only.
5	Valerian	5.47	5.38	0.80	0.81	0.09	Rhizomes only.
6	Valerian	10.91	10.50	0.79	0.92	0.41	Roots only.
7	Belladonna	11.19	11.43	0.83	0.46	0.24	Contained fruits and blossoms.
8	Mulungu	3.61	3.95	0.10	0.20	0.34	Recent raw barks.
9	Passion-flower	12.24	12.25	0.50	0.39	0.01	Recent raw leaves.

\* Powder n.º 20.

The difference *A* represents *B-C*, *B* being the maximum per cent value and *C* the minimum, found in every series of 5 determinations from each lot. *M* represents the difference of the averages, per cent.

Having described and commented on the many factors, which can influence the results of total ashes, the author maintains that the cited results cannot be compared with those found by other authors. This is due to the fact that the drugs used were not in a satisfactory condition, (see remarks in the above table), but were employed to ascertain the constancy of the results, i. e., to prove the value of this experimental method.

The average values obtained in the muffle were slightly inferior to those obtained by incinerating on a Teclu burner. Only lot n.º 6 gave in the muffle a mean value, 0.4% higher than on the Teclu burner. This variation can be attributed to the use in the muffle, of the lowest and final part of the drug.

The difference between the highest and lowest result in every series of 5 determinations of the same drug was always lower than 1 %, both, for the muffle and the Teclu burner.

The author considers that the results obtained, are very good, concluding by the following advantages and recommendations :

1) The combustion of the drug mixed with sand is greatly facilitated by the following factors :

- a) Uniform distribution of the drug particles to be incinerated ;
- b) Uniform distribution of heat ;
- c) Air penetrating easily the central and lower portions (through temporary removal from the muffle or burner) ;

2) The use of white sand facilitates greatly the perception of the end-point of the incineration, and any unburned carbon ;

3) The same sand may be used for up to 5 analyses. A treatment with acid, subsequent washing with water and calcination, leave it in a perfect state to be used again ;

4) The carbonization-time is greatly reduced, (average : 5 min.) ;

5) The true incineration-time is greatly reduced, (average : 30-45 min., in a muffle or on a gas burner) ;

6) The method gives very good results, for the routine, but it needs perfect homogenization of the sample, before weighing out.

#### BIBLIOGRAFIA

- AHLMQUIST, Alfred — 1922 — Ash determination of drug plants. *Svensk. Farm. Tids.* **26** : 437-46. C. A. **17** : 450 (1923)
- ALBAHARY, J. M. — 1908 — Method for complete analysis of vegetable substances. *Compt. rend.* **146** : 336-8. C. A. **2** : 2106 (1908).
- ALFEND, Samuel — 1941 — Report on the analysis of spices and condiments. *Assoc. Off. Agr. Chem., J.* **24** : 667-82. C. A. **35** : 7567 (1941).
- AMERICAN PHARMACEUTICAL ASSOCIATION — The National Formulary 9th ed. Washington, Publish. by A. Ph. A., 1950 ; **1** : 759.
- ANON. — 1911 — Apparatus for safe and uniform ash. *Chem. Ztg.* **35** : 488. C. A. **5** : 2447 (1911).
- ANSELMINO, O. — 1919 — Ash content of powdered drugs. *Ber. pharm. Ges.* **29** : 113-23. C. A. **13** : 2413 (1913)
- APS, E. J. — 1911 — A new apparatus for safe and slow ashing. *Chem. Ztg.* **34** : 1374. C. A. **5** : 1210 (1911)
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS — Official Methods of Analysis 7th ed. Washington, Publish. by the Assoc. Off. Agr. Chem., 1950 ; **1** : 343 e 496.
- AZOR and A. N. THURSTON — 1912 — Powdered and vegetable drugs. *Midland Drug-gist* **45** : 438-9. C. A. **6** : 1210 (1912)
- BELLUCCI, I. — 1949 — Rapid ashing, for analytical purposes, of blood and other biological materials. *Ann. chim. applicata* **39** : 50-3. C. A. **43** : 8419 (1949)
- BOLTZ, G. E. — 1915 — A modified method for determining carbon-free ash in plant substances. *Ind. Eng. Chem.* **7** : 859-60. C. A. **10** : 321 (1915)
- BRIGGS, Charles H. — 1939 — Ash determination in cereal and other vegetable materials. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* **11** : 163. C. A. **33** : 3467 (1939)
- BRITISH PHARMACOPOEIA — Ed. 1948 London, Constable & Co. Ltd., 1948 ; **1** : 711

- BRITISH PHARMACOPOEIA — Ed. 1953 — London, The Pharmaceutical Press, 1953; 1 : 766
- BRITON, Clement S. — 1917 — Preliminary report on determination of ash specially in spices. *Assoc. Off. Agr. Chem., J.* 2, Part II, 201-8 C. A. 11 : 1001 (1917)
- CHEVALIER, J. — 1931 — Ashes of medicinal plants. *IV Congr. Intern. plantes méd. essences.* Paris, Edité par le Comité National Français de la Fédération, 1932; 1 : 173-6.
- CHEVALIER, J. — 1931 a — Ash content of plants. *Pharm. Monatshefte* 12 : 203 C. A. 26 : 169 (1932)
- CLEVENGER, Joseph F. and Claré Olin EWING — 1919 — Partial analysis of 330 American crude drugs. *Am. Pharm. Assoc., J.* 8 : 1010-30; 9 : 15-30 (1920) C. A. 14 : 1735 (1920)
- DAFERT, Otto — 1925 — Note on ashing of small quantities. *Biochem. Z.* 164 : 444-5 C. A. 20 : 2686 (1926)
- ERDÖS, Joseph — 1934 — A simple microashing method. *Z. Untersuch. Lebensm.* 67 : 284-7. C. A. 23 : 3682 (1934)
- EVERS, Norman et al. — 1949 — Evaluation of flake tragacanth. *Analyst* 74 : 2-8. C. A. 43 : 4881 (1949)
- FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS DO BRASIL — São Paulo, Companhia Editôra Nacional, 1926; 1 : XXIX; 3.º suplemento. Rio de Janeiro, Edição da Gazeta da Farmácia, 1951; pág. 36-7
- FIGDOR, W. — 1926 — Application of micro methods to control work in pharmaceutical manufacturing. *Am. J. Pharm.* 98 : 157-62. C. A. 20 : 1688 (1926)
- FORNET, Arthur — 1927 — Crucible for estimating ash. *Ger.* 494.273 June 26 C. A. 24 : 2646 (1930)
- FREY, Otto — 1907 — The determination of the extract and ash contents in drugs according to the Austrian Pharmacopoeia, 8th ed.. *Pharm. Post.* 40 : 227-28. C. A. 1 : 1893 (1907)
- GESELL, W. H. and M. A. DITTMAR — 1925 — Microchemistry as an industrial economy. *Ind. Eng. Chem.* 17 : 808-9. C. A. 19 : 2791 (1925)
- GOEBEL, Ernst — 1931 — Ashing glue and gelatin in the "Effix" muffle furnace. *Kunst-dunger u. Leim* 28 : 117-9. C. A. 22 : 2589 (1931)
- GUTBIER, A. — 1910 — The new ashing lid of W. C. Heraeus. *Chem. Ztg.* 34 : 221 C. A. 4 : 1396 (1910)
- HAGER — Tratado de Farmacia Práctica. Trad. 3.ª ed. alemã. Barcelona, Labor S. A., Reimpressão, 1950; 1 : 72-3
- KODRIK, Károly — 1940 — The ash contents of the official drugs of the Pharm. Hung. IV. *Társaság Értesítője* 16 : 1651. C. A. 34 : 2134 (1940)
- KONDO, Yoshio and M. KAWAMURA — 1934 — Leaf ash of the poisonous plants. *Pharm. Soc. Japan, J.* 54 : 1049-68. C. A. 29 : 4897 (1935)
- KÖNIG — 1929 — Capsule for incinerating (organic materials). *Chem. Ztg.* 43 : 130. C. A. 23 : 4599 (1929)
- KROEBER, Ludwig — 1931 — Pharmacochemical results from the examination of domestic drug plants. *Pharm. Ztg.* 76 : 539-41. C. A. 25 : 3772 (1931)
- LAMPA, Robert R. — 1920 — Suggestions for the pharmacopoeial revision committee. *Am. Druggist* 68 : n.º 5, 26. C. A. 14 : 2049 (1920)
- LEROUX, L. e D. LEROUX — 1919 — Contribution to the study of mineral substances in plants. The ash of certain roots and tubers. *Ann. chim. anal. chim. app.* (2) 1 : 207-9 C. A. 13 : 2548 (1919)
- LIEBENTHAL, Frank — 1951 — Volatile silica affecting plant ash analyses. *Science* 114 : 636-7
- LINTON, A. W. — 1913 — Some commercial samples of drugs. *Am. Pharm. Assoc., J.* 2 : 30-5. C. A. 7 : 1079 (1913)
- LIVERSEEGER, J. F. — 1922 — Determination of the ash of rhubarb. *Pharm. J.* 108 : 426. C. A. 16 : 2576 (1922)

- LOUW, L. G. — 1934 — A routine method for the determination of soluble ash in plant material. *Onderstepoort J. Vet. Sci.* 3 : 191-5. C. A. 29 : 426 (1935)
- MAINES, E. L. — 1914 — Ash contents of crude drugs. *Am. Pharm. Assoc., J.* 3 : 423-7. C. A. 8 : 1643 (1914)
- MAINSBRECQ, V. — 1934 — The proportion of ash in compound powder of rhubarb. *J. Pharm. Belg.* 16 : 771-3. C. A. 29 : 2305 (1935)
- MALHOTRA, R. C. — 1930 — Effect of degree of pulverization and weight of samples on quantitative analysis with particular reference to plant tissues. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* 2 : 398-401. C. A. 24 : 5660 (1930)
- MEHRING, A. L. — 1924 — Total ash determination in spices. *J. Agr. Research* 29 : - 569-74. C. A. 19 : 1168 (1935)
- MÜLLER, Jul. Aug. — 1936 — Ash numbers of drugs in the Hungarian Pharmacopeia. A suggested procedure for the 7th ed. of the German Pharmacopeia for estimating the purity of drugs. *Pharm. Zentralhalle* 77 : 205-9, 221-6. C. A. 30 : 4622 (1936)
- MUSZYNSKI, Jan. — 1932 — The ash content of drugs. *Wiadomosci Farmaceutyczne* 59 : 145-50, 160-4. C. A. 26 : 3074 (1932)
- NEWCOMB, Edwin L. and Manley H. HAYNES — 1915 — Some ash determinations on digitalis. *Am. J. Pharm.* 87 : 112-3. C. A. 9 : 1094 (1915)
- NEWCOMB, Edwin L. — 1915 — Ash content of some unofficial drugs. *Am. J. Pharm.* 87 : 113-5. C. A. 9 : 1094 (1915)
- PATCH, Edgard L. — 1912 — The ash standard. *Am. Pharm. Assoc., J.* 1 C. A. 6 : 3494 (1912)
- PATRASSI, G. — 1930 — Micro-incineration of tissues in histobiochemical studies. *Diagnostica tec. lab. (Napoli) Riv. mensile* 1 : 958-66. C. A. 26 : 5114 (1932)
- PERROT, Em. — *Matières Premières Usuelles du Règne Végétal*, Paris, Masson et Cie. Éditeurs, 1943-1944 ; 1 : 87-8
- PETERS, W. — 1909 — The moisture and ash content of several drugs. *Apoth. Ztg.* 24 : 537. C. A. 3 : 2994 (1909)
- PHARMACOPOEIA HELVETICA — Editio Quinta Bern, Druck und Verlag von Stampfli & Cie., 1941 ; 1 : 28
- PHARMACOPOEIA INTERNATIONALIS — Editio Prima Geneva, World Health Organization, Palais des Nations, 1951 ; 1 : 324
- PHARMACOPOEIA JAPONICA — Editio Sexta Tokyo, Ministry of Health and Welfare, 1952 ; 1 : 758.
- PHARMACOPOEIA OF THE UNITED STATES — 9th ed. Philadelphia, J. B. Lippincott Co., 1906 ; 1 : 589-90
- PHARMACOPOEIA OF THE UNITED STATES. 10th ed. Philadelphia, J. B. Lippincott Co., 1926 ; 1 : 464-5
- PHARMACOPOEIA OF THE UNITED STATES — 11th ed. Easton-Philadelphia, Mack Printing Co., 1936 ; 1 : 473
- PHARMACOPOEIA OF THE UNITED STATES — 12th ed. Easton-Philadelphia, Mack Printing Co., 1942 ; 1 : 628
- PHARMACOPOEIA OF THE UNITED STATES — 13th ed. Easton-Philadelphia, Mack Publishing Co., 1943 ; 1 : 711
- PHARMACOPOEIA OF THE UNITED STATES — 14th ed. Easton Philadelphia, Mack Publishing Co., 1950 ; 1 : 776-7
- RIPPEONE, J. R. and R. MINOR — 1913 — The examination of some drugs with special reference to the anhydrous alcohol and ether extracts and ash. *Am. J. Pharm.* 84 : 433-45. C. A. 7 : 210 (1913)
- RIPPEONE, J. R. (Analysts, N. SMITH, W. TAYLOR and G. STODDART) — 1914 — The examination of some drugs with special reference to the anhydrous alcohol and ether extracts and ash. *Am. J. Pharm.* 86 : 435-44. C. A. 8 : 3835 (1914)
- SCHOELLER, A. — 1922 — Micro-ashing. *Ber.* 55 : 2191-2. C. A. 16 : 3605 (1922)
- SCHWALBE, Carl G. — 1921 — Simplifying the methods for the investigation of plant materials. *Zellstoff und Papier* 1 : 1-5. C. A. 15 : 2722 (1921)



- SCOTT, Gordon H. — 1933-A critical study and review of the method of micro-incineration. *Protoplasma* 20 : 133-51. C. A. 23 : 1730 (1934)
- SEEBORG, Edward F. — 1947 — Survey of methods and equipment used in protein, ash and moisture determinations. *Trans. Am. Assoc. Cereal Chemists* 5 : 19-25. C. A. 41 : 4861 (1947)
- STEWART, W. D. and John M. ARTHUR — 1936 — An improved method for ashing of plant material. *Contrib. Boyce Thompson Inst.* 8 : 199-215. C. A. 30 : 8305 (1936)
- TSCHIRCH, A. — 1916 — Cause of wide variation of ash in certain drugs. *Schweiz. Apoth. Ztg.* 54 : 461-3. C. A. 11 : 523 (1917)
- UBER, Fred M. and T. H. GOODSPEED — 1935 — Micro-incineration studies. I. Localizations of inorganic elements in plant cell walls. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 21 : 428-33. C. A. 29 : 6923 (1935)
- WERNER, O. — 1929 — Apparatus for incinerating plants for microscopical examinations of the ash. *Mikrochemie* 7 : 110-5. C. A. 23 : 4377 (1929)
- WILBERT, M. I. — 1911 — The ash content of drugs. *Am. J. Pharm.* 83 : 474-8. C. A. 5 : 3878 (1911)
- WILBERT, M. I. — 1912 — The ash content of drugs. *Am. Pharm. Assoc., J.* 1 : 454-8. C. A. 6 : 1817 (1912)
- WILBERT, M. I. — 1914 — Proposed U. S. P. IX limitations for the ash content of drugs. *Am. J. Pharm.* 86 : 456-60. C. A. 8 : 3836 (1914)
- WINKLER, L. W. — 1932 — Estimation of the ash in drugs. *Pharm. Zentralhalle* 73 : 593-5. C. A. 27 : 162 (1933)
- WINKLER, L. W. — 1932a — Ash determination in drugs. *Pharm. Zentralhalle* 73 : 612-17, 705-8. C. A. 27 : 562 (1933)
- WISLICENUS, H. — 1920 — Simplification of the methods for the investigation of plant materials. *Zellstoffchem. Abhandlung.* 1 : 77-92. C. A. 15 : 945 (1921)

# BRUCELOSE HUMANA NO ESTADO DE SÃO PAULO. INQUÉRITO SOROLÓGICO (\*)

por

JANDIRA PLANET DO AMARAL  
*Médico do Instituto Butantã*

AUGUSTO DE E. TAUNAY

e

J. R. C. NOVAES  
*Médicos do Instituto Adolfo Lutz*

NELSON PLANET  
*Médico do Instituto Biológico*

e

MARIA BRASIL ESTEVES  
*Assistente do Instituto Butantã*

Desde que a infecção brucélica foi pela primeira vez comprovada no Brasil por CARINI e VESPUCCI, em 1932, nos 20 anos que se sucederam os casos bem documentados de brucelose elevam-se talvez a uma meia centena. Contrariamente e em flagrante contraste com êsses dados, a ocorrência da infecção veterinária, especialmente no gado, apresenta índices muito elevados. No Estado de São Paulo, em trabalho sistemático que realiza o Instituto Biológico, PENHA e D'APICE demonstraram que nossos rebanhos se apresentam pesadamente infectados, não sendo rara a incidência de 100%. Não só o gado vacum, mas também o suíno, de acôrdo com os dados de D'Apice, apresentam índices de infecção igualmente elevados.

Em São Paulo, NEIVA e MELLO (1930), foram os primeiros a verificar a ocorrência da brucelose em rebanhos bovinos do interior do estado, tendo assinalado alto índice de sôro-aglutinações positivas (10,4%) e, ao mesmo tempo, isolado de alguns animais o agente causador da moléstia.

No mesmo ano, NEIVA realiza o primeiro inquérito sorológico sôbre a moléstia, em soros humanos. Usou como antígeno suspensão de *B. suis* e *B. abortus*, obtida de culturas de 48 — 72 horas; a reação foi realizada em estufa a 37°C, 24 horas. Examinou 22 soros recebidos para diagnóstico de lues, de doentes suspeitos de febre tifóide e de indivíduos normais. Em três encontrou títulos aglutinantes significativos (aglutininas 1/80 a 1/160).

O mesmo autor, em 1935, realiza segundo inquérito, utilizando, como antígenos, emulsões de *B. melitensis* e *B. suis*, usadas separadamente. Pratica a reação em banho-maria a 55°C, 2 horas, fazendo uma primeira lei-

(\*) Trabalho laureado com o prêmio MARIO PEREIRA, 1953, da Associação Paulista de Medicina. Entregue para publicação em 28 de dezembro de 1953.

tura e deixando em temperatura ambiente para segunda leitura no dia seguinte. Examinou 603 soros recebidos para reação de Widal ou diagnóstico de lues, obtendo 41 reações positivas, assim distribuídas: 6-1/20, 15-1/40, 7-1/50, 4-1/80, 7-1/80, 7-1/100, 2-1/320 e 1-1/640.

Considera aglutinação de 1/100 como índice seguro de infecção e de 1/80, como índice forte de suspeita da infecção. Em nenhum dos casos em que praticou a hemocultura encontrou o germe na corrente sanguínea.

CARINI, em 1937, realiza inquérito sorológico em 200 soros de doentes suspeitos de febre tifóide, tendo encontrado somente 1 positivo. Usou como antígeno suspensão de cultura de *B. abortus*. No caso positivo, isolou *B. suis* do sangue do paciente.

Em 1940, OLIVEIRA (citado por Parreiras Horta), em 1080 soros de indivíduos matriculados na Fundação Gafrée Guinle, cujo sangue fôra retirado para diagnóstico de lues, pesquisou aglutininas anti-brucela, obtendo os seguintes resultados:

Antígeno	<i>B. melitensis</i>	7 casos	2-1/160	2-1/320	3-1/640
„	<i>B. abortus</i>	32 „	16-1/160	7-1/320	9-1/640
„	<i>B. suis</i>	10 „	6-1/160	3-1/320	1-1/640

Não nos foi possível obter o trabalho original do autor, motivo por que deixamos de transcrever a técnica usada em sua investigação.

Em 1943, SILVA em trabalho realizado no Rio Grande do Sul, verifica incidência muito elevada da moléstia no gado leiteiro que abastece Pôrto Alegre. Em amostras de leite, que correspondem acêrca de 3.400 animais, encontrou 21,79% positivas, fazendo a reação de aglutinação de Zammit (prova lenta). Em certos rebanhos encontrou positividade de 100%, o que coincidia com o estado de saúde do gado (abortos freqüentes). Verificou ainda que cachorros das mesmas localidades apresentavam título aglutinante anti-brucela de 1/640, chegando a isolar do sangue desses animais uma bactéria com caracteres morfológico-químicos de *B. abortus*. Passando à verificação de aglutininas em soros humanos de indivíduos suspeitos de febre tifóide, residentes em Pôrto Alegre e no interior do estado, obteve pequeno número de reações positivas. Em 811 soros, encontrou 6 casos positivos, cujo título aglutinante variava de 1/80 a 1/5120. Em 2, cujos títulos aglutinantes eram altos, isolou o germe por hemocultura, e nos 4 restantes, a história clínica permitia afastar a infecção brucélica. Em 101 soros do interior do estado obteve 2 com título aglutinante 1-1/80 e 1-1/320, não tendo podido obter dados clínicos a respeito desses pacientes.

Em 1944, PERES faz um inquérito em soros de doentes suspeitos de febre tifóide enviados ao Instituto "Ezequiel Dias", de Belo Horizonte. Utilizou somente os soros cuja reação de Widal fôra negativa, sendo os doentes residentes em Belo Horizonte e noutras localidade do Estado. Como antígeno, usou suspensão de *B. abortus* 295 de Huddleson, formulada a 0,5%. Tal antígeno foi padronizado de modo que 1 gôta em 1 cm<sup>3</sup> de solução salina daria concentração de 300 milhões de germes. Usou, como temperatura de incubação para suas reações, 50°C em banho-maria, durante 24 horas. Em 167 soros examinados, obteve os seguintes resultados: 5-1/20,

1-1/40, 2-1/80, 1-1/150 e 3-1/640. Considera o título de 1/80 ou mais como de valor diagnóstico.

O mesmo autor, em 1945, realiza segundo inquérito utilizando 2160 amostras de sangue recebidas para diagnóstico de lues. Praticou reações rápidas em lâmina usando a técnica preconizada pelo "Bureau" de Indústria Animal dos E. U. A., técnica da estação experimental de Beltsville e também o método de Huddleson, preferindo o primeiro por ser mais facilmente padronizável. Os resultados que obteve foram os seguintes: 58-1/25, 25-1/50, 9-1/100, 1-1/200 e 1-1/3200. Não conseguiu informações clínicas dos 10 casos em que obteve aglutinações positivas de 1/100 a 1/200. No caso positivo a 1/3200, tratava-se de um veterinário com forma aguda de brucelose, comprovada pela hemocultura.

CAUSEY e AZEVEDO (1947), em Belém do Pará, pesquisando anticorpos anti-brucela pela técnica de aglutinação rápida de Huddleson em soros bovinos e humanos, encontraram anticorpos para brucela no soro de vacas leiteiras (62,5%) e de novilhas (21,4%), num total de 38 animais. Examinando outro lote de 253 vacas leiteiras, encontraram em 160 (63,2%), títulos aglutinantes de 1/25 ou mais. Na mesma ocasião, isolaram do leite de vaca com aglutininas no sangue, *Brucella abortus*. No pessoal encarregado desses animais (68), encontraram títulos aglutinantes em 16:7-1/25, 3-1/50, 1-1/100, 5-1/200. Examinaram 501 soros recebidos para diagnóstico da lues, tendo encontrado 3 reações positivas: 1-1/25, 1-1/50, 1-1/200. Desses soros, 251 eram de soldados norte-americanos, sendo um positivo a 1/50, e 250 de brasileiros, com dois positivos: 1-1/25 e 1-1/200.

Em 1947, SILVA, prosseguindo na averiguação dos casos de brucelose no Rio Grande do Sul, faz um resumo de suas observações de 1943 até a data da publicação de sua segunda comunicação, trazendo documentação muito importante sobre o que observou. Realizando reações de aglutinação para brucela em 2.244 soros suspeitos de febre tifóide, encontrou 13 nitidamente positivos, obtendo, em 6 deles, dados clínicos completos que confirmaram o diagnóstico da moléstia, tendo isolado *Brucella suis* do sangue de 4. Dos 7 restantes, não obteve informações quanto aos antecedentes. Fazendo um pequeno inquérito entre os trabalhadores de matadouros (107 operários), todos em contacto com carnes, encontrou 21 reagentes, ou seja 19,6% de positivos.

No mesmo trabalho analisa a infecção brucélica no gado bovino e suíno e em outros animais, mostrando o alto grau de infecção dos rebanhos e chamando a atenção para a possibilidade de o homem se infectar com *B. suis*, que é de grande virulência e patogenicidade, e lembra o fato de ser *Brucella abortus* (a mais comum no rebanho bovino) dotada de baixo poder patogênico para o homem, uma vez que raramente é isolada da corrente sanguínea, nos casos de doença.

Em 1952, PACHECO, examinando o soro de 832 doadores de sangue no Distrito Federal e 385 amostra de sangue recebidas pelo laboratório do Hospital dos Servidores do Estado, encontrou incidência de 5,23% de reações positivas, muito acima da média assinalada por outros pesquisadores. Só considera positivos os casos em que a aglutinação é superior a 1/80, aceitando os títulos de 1/40 a 1/80 como suspeitos. Descreve detalhadamente

as técnicas usadas em seu trabalho, não só na preparação do antígeno como também na realização e na leitura da reação, chamando a atenção para êsses detalhes técnicos, que considera fundamentais. Todas as reações foram executadas pelo método lento com incubação de 48 horas.

Em 1953, SCHLÖGEL, em Curitiba, realiza inquérito na população da capital paranaense e no interior do estado, em soros recebidos para diagnóstico de lues. Usou a técnica aconselhada pela "Animal Disease Station — National Agriculture Disease Center", de Beltsville, Maryland (E. U. A.), com antígenos preparados no Instituto de Biologia e Pesquisas Tecnológicas de Curitiba. Introduziu modificação na técnica porquanto fazia reações em placas, tipo de reação de Kline, colocando a mistura soro-antígeno no agitador de Kline durante 7 minutos e sobre as placas, uma lâmpada para aquecer levemente a mistura. Examinou 620 soros recebidos para diagnóstico da lues de residentes na capital do estado (295 homens e 325 mulheres), tendo encontrado 7 casos suspeitos. Considera como negativa a reação até 1/25; suspeita, a partir 1/50 e positiva, além de 1/100. Para avaliar a porcentagem de amostras positivas no interior do estado, analisou o sangue de 874 soldados provenientes de vários municípios, tendo encontrado 2 casos suspeitos e 6 positivos. Examinando 27 amostras de sangue de leiteiros, encontrou 3 com aglutinação acima de 1/100.

Além dos trabalhos mencionados, referentes aos inquéritos sorológicos realizados nos vários Estados do Brasil, na literatura nacional ao nosso alcance encontramos número pequeno de casos nos quais se isolou o germe pela hemocultura.

Em ordem cronológica, temos o caso de CARINI (1932), que foi o primeiro no Brasil a isolar brucela pela hemocultura. Tratava-se de um tripeiro com a moléstia em fase aguda e a variedade isolada foi *suis*, identificada por BIER (1932).

No ano seguinte, BARROS e GIANONI (1933) relatam a observação de um descarnador do frigorífico Armour (S. Paulo), portador de brucelose aguda com *B. suis* no sangue circulante.

Em 1934, CARINI descreve novo caso da doença no qual isolou *B. suis* de um lavrador, que estivera partejando uma porca.

Segundo PACHECO e MELLO (1950), Wederhake, em 1934, estudando foco de brucelose na cidade de Santa Maria, isolou *B. abortus* de 2 mulheres com moléstia febril simulando febre tifóide. A primeira trabalhava num cortume e a segunda, sua mãe, foi quem dela tratou durante a moléstia.

No mesmo ano, PEREIRA FILHO, no Rio Grande do Sul, relata caso de mulher com sintomatologia de brucelose, de quem isolou, pela hemocultura, *B. abortus*, atribuindo o autor, como fonte de contágio, a ingestão de creme Chantilly.

Ainda em 1933, ANTUNES e CARNEIRO isolam em São Paulo, *B. suis* de um trabalhador de frigorífico.

No Rio de Janeiro, o primeiro caso, com hemocultura positiva, foi descrito, em 1934, por CORREA, em doente cuja profissão era de abatedor de porcos. O germe isolado foi identificado como *B. melitensis*, por Lacorte.

Assim foram-se sucedendo os diagnósticos de brucelose positivados pela hemocultura. BOTTINI (1936), no Rio Grande do Sul, relatou 1 caso de infecção por *B. abortus*, provavelmente devido à ingestão de leite cru. CARINI (1936 e 1937) isola *B. suis* de 2 doentes, um, açougueiro, e, o outro, tratador de animais.

BARROS (1937) observa 2 pacientes com moléstia aguda, de quem isolou *B. suis* do sangue. O interessante destes 2 casos é que os portadores da moléstia tinham como profissão a de tirador de areia e de motorista.

SILVA, em 1943, no Rio Grande do Sul, relata 9 casos com hemocultura positiva, 7 por *B. abortus* e 2 por *B. suis*. O mesmo autor, em 1947, completando suas observações, isola *B. suis* de mais 4 doentes.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Nossa intenção, ao planejar este trabalho, foi a de fazer um inquérito sorológico em vários grupos da população do Estado de São Paulo, utilizando técnicas perfeitamente padronizadas.

Não é nosso propósito analisar os vários processos usualmente empregados no diagnóstico laboratorial da brucelose; procuramos unicamente justificar quais as razões que nos levaram a dar preferência a certas técnicas, sem cogitar do emprego de outras.

No diagnóstico da brucelose são de uso corrente quatro processos:

- 1) Teste alérgico;
- 2) Índice opsonocitofágico;
- 3) Reação de aglutinação;
- 4) Cultura do agente causal.

Quanto ao valor dos dois primeiros, as opiniões dos vários autores não são concordes. O teste alérgico tem sido largamente utilizado, empregando-se, como antígeno, as preparações mais variadas, o que torna difícil a comparação dos resultados. SPINK e col. (1952), no relatório que apresentaram sobre alguns aspectos do critério diagnóstico da brucelose humana, chegam a dizer: o teste alérgico não serve de auxílio no diagnóstico de casos de brucelose; seu uso indiscriminado e sem crítica tem provocado confusão entre os clínicos; o emprego desta prova deve ser abandonado para uso diagnóstico.

Quanto ao índice opsonocitofágico, seu emprego requer um controle tal que dificilmente seria conseguido num inquérito desta natureza.

É a reação de aglutinação, sem dúvida alguma, o elemento de maior valor para o diagnóstico, desde que realizada dentro de normas certas.

É indispensável que os antígenos usados sejam preparados com amostras de brucela rigorosamente lisas porque, dada a tendência de essas bactérias dissociarem-se, podem ocorrer variações muito amplas na sua aglutinabilidade pelos soros imunes.

Obtida uma amostra de brucela que sirva para preparar antígeno, o método de prepará-lo, assim como as temperaturas de incubação, parece que não interferem com a leitura das reações.

FEINBERG e WRIGHT (1951), preparando antígenos formolados, fenicados ou mortos pelo calor, a partir de 22 culturas de brucela, originárias da mesma cepa, obtiveram, sempre, títulos aglutinantes semelhantes, para os mesmos soros fôsse qual fôsse o antígeno e a temperatura de incubação. Nas temperaturas de 24°C e 60°C não notaram diferenças nos seus resultados; somente aumentou o número de reações cruzadas não específicas para os antígenos fenolados, quando a temperatura de incubação era inferior a 56°C. Com antígenos formolados não houve êste inconveniente; no entanto, tais antígenos favoreceram o fenômeno da zona.

Resultados, divergentes com o mesmo sôro em vários laboratórios, mostram bem a importância do emprêgo de um antígeno uniforme e bem estandardizado.

MURDOCK e cols. (1952) fizeram inquérito sôbre a prova de aglutinação no diagnóstico da brucelose, realizada em vários laboratórios, cada qual usando antígenos próprios. Os resultados finais são de difícil comparação, o que bem mostra a necessidade de estabelecer técnica uniforme usando antígeno estandardizado, como já foi feito nos Estados Unidos da América do Norte para uso animal, o que permitiu o contrôle da infecção nos animais.

A afirmação de que aglutininas anti-brucela podem aparecer em outras doenças febris não parece ser verdadeira; não há dúvida de que estas, quando aparecem, apresentam títulos baixos.

A interpretação da reação é problema muito importante. Quanto mais alto o título aglutinante, maior a certeza de infecção ativa; um título de 1/100, juntamente aos sintomas da moléstia, já é de grande valor diagnóstico. Títulos mais baixos, em zonas onde a moléstia é endêmica, não devem ser considerados (SPINK e cols. 1952).

A ausência de aglutininas em doentes com hemoculturas positivas também já foi descrita. WEST e BORMAN (1945), cultivando sistematicamente coágulos sanguíneos de indivíduos com moléstia febril, verificaram em 16% a presença de brucelas sem o achado de aglutininas no sôro. Suas verificações, entretanto, não puderam ser reproduzidas por outros autores (SPINK, 1952).

A pesquisa das aglutininas tanto pode ser feita pelo método rápido, em lâmina, como pela aglutinação lenta, em tubo. A primeira tem a vantagem de nos informar, rapidamente, da presença de aglutininas num determinado sôro, não devendo ser utilizada com o fito de verificar o teor destas, que somente a aglutinação em tubo irá indicar de maneira certa.

Conforme verificaremos mais adiante, utilizamos os dois métodos: o da lâmina com antígeno corado, titulado para aglutinar até soros de título aglutinante 1/10 e o método lento, em tubo, para verificação do teor em aglutininas dos soros positivos. Achamos útil usar antígeno com tal sensibilidade porque, assim, dificilmente nos escaparia um caso, mesmo que o teor em aglutininas fôsse bastante baixo.

SPINK (1952), empregando, durante um período de 5 anos, antígeno semelhante, titulado para reagir com soros de título 1/100, obteve resultados plenamente concordes com os da aglutinação lenta.

HEMOCULTURA — É o único método de laboratório que permite o diagnóstico da moléstia sem sofrer contestação. Apesar de não ser positiva em grande número de casos, não pode deixar de ser empregada.

Por dificuldades independentes de nossa vontade, só a utilizamos em pequeno número de casos e, sempre que possível, nos que assinaláramos, previamente, título aglutinante no sangue ou quando a suspeita clínica era de brucelose.

Usamos o processo preconizado por Castañeda (1947), tomando o cuidado de utilizar, na preparação do meio de cultura, peptona que não contivesse fatores anti-brucelá (SCHUKARDT e cols. 1951 e PICKETT e NELSON (1951).

Nosso meio de cultura foi preparado de maneira idêntica ao descrito por Castañeda, somente tendo sido substituída a triptose "Difco" pela peptona "M. Albimi".

#### PREPARAÇÃO DO ANTÍGENO

ANTÍGENO RÁPIDO — A principal característica deste antígeno é ser suspensão espessa de brucelas adicionadas a um corante (azul de metileno). Para a standardização deste antígeno partimos de uma amostra que nos foi fornecida pelo Dr. Ruiz Castañeda.

Este antígeno foi preparado por um de nós, de acordo com a seguinte técnica: Amostras utilizadas — *Brucella abortus* 600 e *Brucella melitensis* 582, cuja estabilidade foi previamente verificada, não apresentando qualquer sinal de variação. Semear em tubos de ágar-fígado; 48 horas após, suspender o crescimento bacteriano em 10cm<sup>3</sup> de solução fisiológica e semear, esta suspensão, em garrafas de Roux com ágar-fígado (um tubo para cada duas garrafas); incubar 24 horas em posição normal e, em seguida, invertê-las (ágar para acima) por mais de 24 horas. Ao fim deste tempo de incubação verificar a pureza da cultura e suspender o induto, em 20 cm<sup>3</sup> de solução fisiológica formolada a 4%. Filtrar as suspensões em algodão, adicionando-se mais formol de modo a obter concentração final de 10%. Deixar a suspensão bacteriana em temperatura ambiente durante 48 a 72 horas. Desprezar o depósito mais grosseiro, que decantou no fundo das provetas e centrifugar a suspensão bem homogênea de bactérias a 2.000 r. p. m., durante duas horas. Desprezar o sobrenadante e ressuspender o centrifugado no menor volume possível de solução fisiológica. O antígeno foi sempre preparado usando-se partes iguais de brucelas *abortus* e *melitensis*.

O acerto final da suspensão foi feito, por comparação, com o antígeno original de Castañeda, a fim de se obter turvação e coloração semelhantes.

Depois de preparada cada partida, o antígeno foi testado para verificar sua sensibilidade. Utilizamos soros positivos, em geral de origem animal (bovinos), previamente titulados.



Como nossa principal intensão era a de obter aglutinações mesmo em títulos muito baixos (inclusive 1/10), tivemos o cuidado de preparar antígeno com o máximo de sensibilidade, isto é, que reagisse com soros cujos títulos fôsem de 1/10.

As condições que permitem obter antígenos mais ou menos sensíveis dependem da concentração de germes, da concentração do corante, e da predominância de uma das amostras. Em nosso caso, a concentração de germes que satisfaz plenamente nossas exigências era tal que diluído cem vezes, correspondia ao tubo n.º 3 da escala de Mac Farland. O corante foi sempre juntado para obter coloração igual ao padrão de Castañeda. As amostras foram usadas em partes iguais. As diversas partidas de antígeno, preparadas nessas condições, aglutinavam com soros de títulos 1/10. Para preparar antígenos menos sensíveis, devem-se variar as condições de seu preparo. Pode-se aumentar as concentrações dos germes fazendo predominar *Brucela abortus*, que produz antígenos mais "duros". Esta mesma suspensão bacteriana, sem o corante, constitui a emulsão-mãe usada para obtenção do antígeno lento, que é utilizado diluindo-se aquela cem vezes.

**TÉCNICA DA REAÇÃO RÁPIDA** — Em placa de vidro quadriculada, colocada sobre uma caixa iluminada (caixa de Huddleson), distribuem-se os soros a testar (0,03 cm<sup>3</sup>) aos quais se adicionam 0,02 cm<sup>3</sup> do antígeno. Misturam-se com bastãozinho de vidro e a leitura é feita até o prazo de 2 minutos. Os resultados positivos são, nitidamente distintos dos negativos, pela formação de finos flocos de aglutinação, muito semelhantes aos que se obtêm na determinação dos grupos sanguíneos.

**TÉCNICA DA AGLUTINAÇÃO LENTA** — Os soros, positivos pelo teste da aglutinação rápida, foram examinados pelo método lento, partindo-se da diluição 1/25. A leitura foi feita após incubação de 24 horas a 37°C e permanência até o dia seguinte em temperatura ambiente ou geladeira. Nos casos fortemente positivos e nos que havia suspeita clínica de brucelose, sempre que possível, foi feita a hemocultura, assim como obtidos dados relativos aos antecedentes mórbidos.

## RESULTADOS

Usando as técnicas anteriõrmente descritas, examinamos 13.177 soros, enviados ao Instituto Adolfo Lutz pelos vários Centros de Saúde do Estado, Hospital das Clínicas da Universidade, serviço do Professor João Alves Meira e pelo Hospital Emílio Ribas, e que podem ser divididos em quatro grupos distintos :

- 1) soros de doentes com diagnóstico clínico de brucelose.
- 2) soros de doentes com diagnóstico clínico de moléstia infecciosa, excluída a brucelose.
- 3) soros recebidos para diagnóstico de lues ou de indivíduos normais (doadores de sangue).
- 4) soros de empregados em matadouro.

As amostras examinadas correspondem a indivíduos residentes na capital do estado e nos vários municípios do interior.

Consideramos o grupo 3 como sendo de indivíduos normais, representativo da média da população do estado.

A título de comparação, incluímos, em nossa observação, empregados de matadouro, apesar de ser seu número reduzido, pois sabemos de antemão, estarem estes indivíduos muito expostos à infecção brucelica. I) Considerando como de significação diagnóstica um título aglutinante igual ou superior a 1:100, resumimos, na tabela I os resultados obtidos para cada grupo.

TABELA I

GRUPO	Total de reações	Reações positivas $\geq 1:100$	
		Número	% sobre o total
Suspeita clínica de brucelose...	170	6	3,53
Doenças febris diversas .....	1.825	14	0,77
Testemunhos (normais) .....	11.152	3	0,03
Trabalhadores de matadouro...	30	1	3,33

Dáí podemos tirar as seguintes conclusões.

a) A positividade da sôro-aglutinação em 3,53% dos 170 indivíduos com suspeita clínica de brucelose contrasta, nitidamente, com a proporção de 0,03% de reações positivas no grupo de 11.152 indivíduos "normais", tomados como testemunho. A magnitude da diferença, entre as incidências de reações positivas nesses dois grupos, é de tal ordem que dispensa qualquer tratamento estatístico para comprovação da significância. Este resultado, embora por si só não prove a especificidade da soro-aglutinação para o diagnóstico de brucelose, indica claramente que, com a técnica empregada, apenas muito excepcionalmente serão obtidas reações positivas em indivíduos normais.

b) No grupo de 1825 indivíduos com doenças febris, excluída a brucelose, a incidência de reações positivas foi de 0,77%, que é ainda nitidamente mais elevada que no grupo testemunho. Este resultado dá uma medida da extensão em que devem ocorrer casos de brucelose diagnosticados clinicamente como infecções outras.

c) A diferença, na incidência de reações positivas, entre o grupo de indivíduos com suspeita clínica de brucelose e o grupo das doenças febris diversamente diagnosticadas, é altamente significativa.

TABELA II

GRUPO	Positivos $\geq 100$	Negativos	Total
Doenças febris diversas .....	14	1.811	1.825
Suspeita de brucelose .....	6	164	170
Total .....	20	1.975	1.995

$$\chi^2 = 9,3350$$

$$P = 0,0022$$

Esta diferença indica paralelismo definido entre o diagnóstico clínico e o resultado da soro-aglutinação, com relação à brucelose, em grupos de indivíduos nas condições dos que foram por nós observados.

d) Em operários de matadouro, embora nossas conclusões aqui tenham a reserva ditada pelo número reduzido de observações (30), a incidência de reações positivas (3,33%) foi relativamente elevada, igual a observada no grupo de indivíduos com diagnóstico de brucelose.

II) Considerando-se agora as reações positivas em título inferior a 1:100, nos indivíduos dos 4 grupos estudados, excluídos os que apresentaram títulos aglutinantes mais altos, podemos resumir nossos resultados na tabela III.

TABELA III

GRUPO	Total de reações	Reações positivas < 1 : 100	
		Número	% sobre o total
Suspeita clínica de brucelose..	164	6	3,66
Doenças febris .....	1.811	10	0,55
Testemunhos "normais" .....	11.149	34	0,30
Trabalhadores de matadouro..	29	6	20,69

Dêsses resultados, podemos tirar as seguintes conclusões :

a) A incidência de soro-aglutinação positiva, em título baixo, é significativamente maior nos indivíduos com suspeita clínica de brucelose, quando comparada, seja com a incidência nos indivíduos "normais" seja com a incidência nos indivíduos com doenças febris diversas :

TABELA IV

GRUPO	Positivos < 1 : 100	Negativos	Total
Suspeita clínica de brucelose ...	6	158	164
Testemunhos "normais" .....	34	11.115	11.149
Total .....	40	11.273	11.149

$$\chi^2 = 42.5117$$

$$P < 0,001$$

b) A incidência de soro-aglutinações positivas, em título baixo, não difere, significativamente, entre o grupo de indivíduos normais e o de indivíduos apresentando doenças febris diversas :

TABELA V

GRUPO	Positivos < 1 : 100	Negativos	Total
Suspeita clínica de brucelose ...	6	158	164
Doenças febris diversas .....	10	1.801	1.811
Total .....	16	1.959	1.975

$$\chi^2 = 14.3995$$

$$P < 0,001$$

c) Elevado índice de reações positivas em título baixo (20,69%) é encontrado em operários de matadouro, aparentemente normais, o que dispensa qualquer tratamento estatístico.

Tais conclusões são altamente sugestivas de que as soro-aglutinações positivas em título baixo resultem de infecções por brucela. Representassem tais reações inespecificidade da soro-aglutinação, seria de se esperar que ocorressem numa mesma proporção nos diferentes grupos de indivíduos. A equivalência das proporções observadas nos grupos de indivíduos "normais" e de portadores de doenças febris diversas, sugere, ainda, que as aglutinações em título baixo não resultam de reação anamnésica.

III) Voltando a considerar o grupo de operários de matadouro, constatamos que nossos resultados, embora baseados em número pequeno de observações, se assemelham aos verificados por outros autores que usaram

métodos e material comparáveis. Considerando tanto as reações positivas em título alto como as de título baixo, nossos resultados são muito semelhantes aos assinalados por PERES, ANGELO e MALHEIROS.

TABELA VI

GRUPO	Positivos	Negativos	Total
Doenças febris diversas .....	10	1.801	1.811
Testemunhos "normais" .....	34	11.115	11.149
Total .....	44	12.916	12.960

$$\chi^2 = 2.131$$

$$P = 0,145$$

TABELA VII

AUTOR	Reações positivas > 1 : 100	Reações positivas < 1 : 100	Reações negativas	Total de reações
Presente trabalho .....	1	6	23	20
Peres e col (1945) .....	10	22	136	168
Total .....	11	28	159	198

$$\chi^2 = 1,236$$

$$P = 0,53$$

Conforme indica o teste do que ao quadrado não há diferença, estatisticamente significativa, entre as duas séries de resultados.

HEMOCULTURA — Foi realizada em 23 casos nos quais havia aglutininas no sôro, tendo sido positiva em um paciente, de quem foi isolada *B. suis*. Em doentes com suspeita clínica da moléstia, mas sem aglutininas no sangue, foram realizadas 30 hemoculturas, tôdas com resultado negativo.

#### DISCUSSÃO

Fôsse falho o método que usamos, certamente não iríamos encontrar maior número de aglutinações positivas  $\geq 1:100$  nos grupos onde era de se esperar que estas ocorressem. O fato de operários de matadouro e de doentes com suspeita clínica de brucelose terem apresentado índice sorológico bastante semelhante bem mostra que a técnica empregada foi boa. Houvesse esta sido má, não haveria diferença tão altamente significativa

entre o grupo de indivíduos com suspeita clínica de brucelose e o de indivíduos com doenças febris de outra origem ( $\chi^2 = 9,335$ ;  $P = 0,002$ ), mostrando paralelismo definido entre a suspeita clínica e o resultado da soro-aglutinação.

A enorme diferença entre o grupo normal e o de suspeita clínica (0,03 para 3,53%) dispensa tratamento estatístico para comprovação de significância. Se bem que não prove a especificidade da soro-aglutinação, indica claramente que, muito excepcionalmente, se obterão reações positivas em indivíduos normais.

Se analisarmos os resultados positivos  $<1:100$ , verificamos que aqui também o maior número de reações positivas ocorre no grupo de doentes suspeitos, se bem que em número muito inferior ao dos operários de mata-douro.

No grupo de indivíduos normais e de indivíduos apresentando doenças febris diversas, as aglutinações em título baixo não diferem significativamente ( $\chi^2 = 2,131$ ;  $P = 0,145$ ), o que nos leva a crer que êstes títulos sanguíneos também resultem de infecções por brucela, passadas ou presentes. Representassem inespecificidade da reação, deveriam ocorrer nas mesmas proporções nos diferentes grupos. A equivalência observada nos grupos de indivíduos normais e de portadores de doenças febris diversas, sugere ainda que não são devidas à reação anamnésica.

Diante desses resultados, julgamos não ser a brucelose moléstia tão freqüente como se supõe. Poderá parecer estranha esta nossa afirmação de que a brucelose humana seja pouco freqüente em São Paulo, pois a literatura médica brasileira mais recente acha-se enriquecida de grande número de casos considerados como tal.

Além do mais, o fato de o gado vacum em São Paulo apresentar alto índice de infecção brucélica ativa, com conseqüente elevado índice de soro-aglutinações positivas e eliminação do agente patogênico pelo leite que servirá ao consumo da população, tem levado muitos médicos e sanitaristas a crerem que a brucelose humana em nosso meio seja premente problema sanitário.

Acreditamos que, a muitos casos de brucelose humana até hoje diagnosticados entre nós, falem bases suficientes para o estabelecimento de um diagnóstico preciso.

A discordância entre a alta infecção do gado vacum, principal fonte de contágio para o homem, e o baixo índice da doença humana pode ser explicada perfeitamente pelo fato de aqui existir somente a variedade *abortus*, de baixa patogenicidade para o homem e que, quando o infeta, tende a desaparecer espontaneamente ou sendo pequeno o número de indivíduos nos quais a moléstia toma a típica evolução de febre ondulante.

Como se pode verificar nas tabelas de nosso trabalho, o alto índice de positividade, encontrado entre os trabalhadores de matadouro, contrasta, de maneira muito nítida, com os índices da população tomada como testemunha. Ora, se a infecção fôsse fácil de ser adquirida, tal fato não deveria ocorrer numa região como é nosso Estado, onde existem rebanhos nos quais 100% dos animais são doentes, muitos deles eliminando o germe pelo leite.

Verificações feitas por MORALES OTERO (1929 e 1930), mostram bem as dificuldades de provocar a infecção com *B. abortus*. Para provocar a doença em voluntários, por via gastrintestinal, necessitou de 7 doses sucessivas de *B. abortus* suspensas em leite, tendo obtido um caso de infecção leve. Quando usou *B. melitensis* ou *B. suis*, duas doses foram suficientes para provocar forma aguda de brucelose.

Outro fato sugestivo de que a maioria dos casos de febre ondulante, diagnosticados clínica e sorologicamente em São Paulo, sejam produzidos por *B. abortus* é a baixa freqüência de positividade das hemoculturas.

Nos países onde a moléstia é endêmica, devida a *B. melitensis* e *B. suis*, a regra é a obtenção de 80% de hemoculturas positivas dos casos clinicamente bem diagnosticados e quase 100% nas formas agudas com título aglutinante no sangue (SPINK, 1952, CASTAÑEDA, 1942). No entretanto, na moléstia produzida pela *B. abortus*, a hemocultura só é positiva em 10-20% (Wilson e Miles).

Nosso trabalho mostrou que, hemoculturas feitas em doentes com sintomatologia típica de brucelose e com alto título aglutinante no sangue, sempre foram negativas, mesmo quando repetidas por várias vêzes. Como já vimos anteriormente, todos os casos bem documentados de brucelose humana em São Paulo, que pudemos verificar, tinham como agente etiológico *B. suis*. Dados epidemiológicos sobre este tipo de moléstia, computados em outros países, mostram que ela é essencialmente profissional, ocorrendo entre pessoas que lidam com porcos, sobrevivendo a infecção através da pele lesada.

Os dados acima citados assinalam a relação muito nítida entre a profissão e a doença.

Assim sendo, a enorme discrepância entre a extensão da infecção veterinária e a baixa freqüência da doença humana seriam perfeitamente explicáveis, em nosso Estado, pela pouca patogenicidade de *B. abortus* para o homem e pelo fato de a ocorrência de *B. suis* estar ligada à moléstia profissional.

Nos países onde a moléstia é endêmica, com número elevado de doentes, a regra é o isolamento de *B. melitensis*, que, das três espécies, é a mais patogênica para o homem.

No Brasil, a variedade *melitensis* só foi assinalada rarissimamente, e, mesmo alguns casos são discutíveis. Em medicina veterinária não tem sido assinalada de todo. Acresce que a principal fonte de infecção *melitensis*, o gado caprino, tem pouca expressão econômica no Brasil e, pelos dados disponíveis, encontra-se indene da infecção por *B. melitensis*.

Por outro lado, sendo o leite a principal fonte de infecção, o hábito indiscutível do uso do leite fervido, poderá, talvez, representar papel importante na prevenção da moléstia, sendo forçoso convir, entretanto, que não dispomos de qualquer dado em abono desta hipótese.

#### RESUMO

Os autores, usando a técnica de Castañeda, realizaram um inquérito sorológico sobre a brucelose no Estado de São Paulo. Examinaram o soro de doentes: 1) com diagnóstico clínico de brucelose (170); 2.º de doentes

com diagnóstico clínico de moléstia infecciosa, excluída a brucelose (1825); 3.º soros de indivíduos supostos normais para diagnóstico de lues ou de doadores de sangue (11.152); 4.º sôro de operários de matadouro (30).

A incidência de reações positivas a título <100 entre os indivíduos com suspeita clínica de brucelose (3,53%) e do grupo suposto normal (0,036), dispensa tratamento estatístico, mostrando, ao mesmo tempo, que, com a técnica empregada, excepcionalmente, serão obtidas reações positivas em indivíduos normais.

A incidência de reações positivas, entre o grupo de indivíduos com suspeita clínica de brucelose e os de doenças febris diversamente diagnosticadas, é altamente significativa ( $x = 9,335$   $P = 0,0022$ ), mostrando um nítido paralelismo entre o diagnóstico clínico e a sôro-aglutinação.

As reações em título <100 sugerem que sejam resultantes de infecções por brucela, uma vez que ocorreram em muito maior número no grupo com suspeita clínica da doença. Se não fôsse essa a causa, seria de se esperar que ocorressem numa mesma proporção nos diferentes grupos de indivíduos. A igualdade das proporções observadas nos grupos de indivíduos "normais" e de portadores de doenças febris diversas faz crer que as aglutinações em título baixo não resultam de reação anamnésica.

Apesar do número reduzido de observações dos trabalhadores em matadouro, nossos resultados são semelhantes aos assinalados por outros autores nacionais, não havendo diferença estatisticamente significativa.

O fato do grupo vacum apresentar alto índice de infecção brucélica ativa, principal fonte de contágio para o homem, sendo baixo o índice da doença humana, pode ser explicado por serem os animais infetados pela variedade *B. abortus* de baixa patogenicidade para o homem.

Todos os casos publicados em São Paulo em que a moléstia foi comprovada pela hemocultura tinham como agente etiológico a *B. suis* estando a doença quase sempre ligada à moléstia profissional.

Talvez a pasteurização do leite ou sua fervura, hábito normal da população, represente um papel importante na prevenção da moléstia.

#### SUMMARY

The authors using the Castañeda brucella slide agglutination test, performed an inquire in São Paulo, Brazil.

The blood of four groups of patients was tested: 1) with clinical diagnosis of brucellosis (170); 2) with clinical diagnosis of infectious disease, not suspected of brucellosis (1825); 3) samples for lues diagnosis (11.152); 4) slaughter-house workers (30).

The antigen used, was prepared according to Castañeda rapid antigen, colored with methylene blue. This antigen was built in such a way that it will agglutinate sera with a tube title as weak as 1/10 and was used for screening test. The same antigen, without the dye, was used for tube agglutination.

Blood cultures (Castañeda method) were performed in 23 blood specimens. Considering a tube title of 1/100 as indicative of brucellosis our results may be resumed as follows:



GROUP	TOTAL OF REACTIONS	Positive $\geq$ 1/100	
		N.º	%
1) Clinical diagnosis of brucellosis .....	170	146	3.53
2) Infectious diseases not suspected of brucellosis.....	1,825	14	0.77
3) Lues samples .....	11,152	3	0.03
4) Slaughter-house workers.....	30	1	3.33

Comparing agglutination title between group 1 (3,53%) and groups 3 (0.003) we may conclude that : 1) with our technic positive reactions will occur excepcionally in the supposed normal group ; 2) clinical diagnosis and serum agglutination run in paralel ( $\chi^2 = 9.350$   $P = 0.002$ ) ; 3) higher incidence of positive reactions in group 2 shows clearly that brucellosis may simulate another infectious diseases.

Considering now titles below 1/100 we may resume our results as follows :

GROUP	TOTAL OF REACTIONS	Positive $<$ 1/100	
		N.º	%
1) Clinical diagnosis of brucellosis .....	160	6	3.66
2) Infectious disease brucellosis not suspected. ....	1,811	10	0.55
3) Lues samples .....	11,149	34	0.30
4) Slaughter-house workers.....	29	6	20.69

We may conclude that : 1) the higher incidence of a low blood title in patients which clinical diagnosis of brucellosis is statistically significant if we compare with group 3 ( $\chi^2 = 42.5117$  — $P < 0.001$ ) and group 2 ( $\chi^2 = 14.399$   $P < 0.001$ ).

We may assume that even a positive reaction in low title must be caused by brucella infection previous or actual.

2) There is not any statistical difference between groups 2 and 3 ( $\chi^2 = 2.131$   $P = 0.145$ ). If these reactions were inespecific, probably they would occur in the same proportion in all different groups. The similarity of incidence between groups 2 and 3 shows clearly that agglutinations in low title are not due to anamnestic reaction.

Blood culture was realized in 23 patients and only one time we were able to recover the brucella organism identified as *B. suis*.

Although the native cattle presents the brucellosis in a high degree, being the chief source of infection in man, the incidence of the disease is very low in humans. This is explained by the fact that the brucellosis in cattle, caused by *Brucella abortus*, is of low pathogenicity for the human being.

All cases of human brucellosis diagnosed in S. Paulo with positive hemoculture for *Br. suis* prove that the infection found is almost exclusively a professional disease.

The pasteurization or the simple boiling of the milk, a common use of population, are of a great importance in the prevention of the disease in man.

\* \* \*

Não podemos deixar de consignar os nossos agradecimentos ao Dr. Paulo Melo Freire que se encarregou da parte estatística do nosso trabalho.

#### BIBLIOGRAFIA

- ANTUNES, A. e CARNEIRO, V. (1933) — *Brucella suis* e sua ação patogênica para o homem. *Rev. Soc. Paul. Med. Vet.* 3 : 107-119.
- BARROS, O. M. (1937) — As bruceloses humanas no Brasil. A propósito de alguns casos observados em S. Paulo. *Rev. Clin. S. Paulo*, 1 : 24-42.
- BARROS, O. M. e GIANINI, G. (1933) — Sobre um caso de brucelose de São Paulo. *An. Paul. Med. Cir.* 26 : 125-126.
- BIER, O. (1932) — Caracterização bacteriológica da amostra de *Brucella*, de proveniência humana, isolada pelo Prof. Carini, em S. Paulo. *Arch. Biologia* 15 : 140-141.
- BOTTINI, A. (1936) — Brucelose humana. *Brasil Médico* 50 : 1014-1018.
- CARINI, A. (1934) — Mais dois casos de febre ondulante. *Arch. Biologia* 16 : 32-35.
- CARINI, A. (1936) — Mais alguns casos de febre ondulante. *Arch. Biologia* 20 : 14-16.
- CARINI, A. (1937) — Ainda um caso de febre ondulante causada por *Brucella suis*. *Arch. Biologia* 21 : 11-12.
- CARINI, A. e VESPUCCI, P. (1932) — Primeiro caso autóctone de febre ondulante, comprovado pela hemocultura, observado no Brasil. *Arch. Biologia* 15 : 135-138.
- CASTAÑEDA, M. R. (1947) — A practical method for routine blood in brucellosis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 73 : 46-49.
- CASTAÑEDA, M. R.; TOVAR, R. e VELEZ, R. (1942) — Studies on brucellosis in Mexico. Comparative study of various diagnostic tests and classification of the isolated bacteria. *J. Inf. Diseases* 70 : 97-102.
- CAUSEY, C. E. e AZEVEDO, M. C. (1947) — Infecção por *Brucella* no homem e no gado em Belém, Pará. *Rev. Serviço Espec. Saúde* 1 : 77-86.
- CORREA, J. J. (1934) — Primeiro caso de febre ondulante aparecido no Rio de Janeiro. *Brasil Médico* 48 : 953-954.
- FEINBERG, R. J. e WRIGHT, G. G. (1951) — Factors influencing the agglutination titration in human brucellosis. *J. Immunology* 67 : 115-122.
- HORTA, P. PARREIRA (1942) — Bruceloses. *Arg. Higiene* 12 : 113-176.
- MURDOCK, F.; ROEPKE, M. H. e BLOOD, B. D. (1952) — Uniformización del diagnóstico de la brucellosis en las Américas. 1. Estudios comparativos de los metodos de laboratorio en uso. *Bol. Ofic. Sanit. Panamericana* 32 : 136-146.
- NEIVA, C. (1930) — Agglutininas para *Brucella abortus* em soros humanos. *Rev. Soc. Paul. Med. Vet.* 1 : 73-80.

- NEIVA, C. (1935) — Aglutininas para o gênero *Brucella* em soros humanos. *An. Paul. Med. Cir.* 30 : 5-6.
- NEIVA, C. e MELLO, A. (1930) — A moléstia de Bang em S. Paulo. *Rev. Soc. Paul. Med. Veter.* 1 : 118-122.
- OTERO, P. M. (1929) — Experimental infection of *Brucella abortus* in man. *Porto Rico J. Pub. Health Trop. Med.* 5 : 144-157.
- OTERO, P. M. (1930) — *Brucella abortus* in Porto Rico. *Porto Rico J. Pub. Health Trop. Med.* 6 : 3-88.
- PACHECO, G. (1952) — Freqüência de brucelose particularmente em candidatos a doadores de sangue. *Brasil Médico* 65 : 227-232.
- PACHECO, G. e MELLO, M. T. (1950) — Brucelose humana no Brasil. Contribuição para o estudo da casuística nacional. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 48 : 393-436.
- PERES, J. N. (1944) — Pesquisas de aglutininas para *Brucella abortus* em soros Widal negativos. *Brasil Médico* 58 : 449-450.
- PERES, J. N. (1945) — A febre ondulante no Estado de Minas Gerais. *Brasil Médico* 59 : 2-4.
- PERES, J. N.; ANGELO, P. e MALHEIROS, C. (1945) — Investigações sobre a febre ondulante em Belo Horizonte (Estado de Minas Gerais). An. III.º Congr. Bras. Vet. Porto Alegre, Outº 1945, pp. 558-564.
- PICKETT, M. J. e NELSON, E. L. (1951) — Observations on the problem of *Brucella* blood cultures. *J. Bacteriology* 61 : 229-237.
- SCHLÖGEL, F. (1953) — Contribuição ao conhecimento da brucelose humana em Curitiba. *Hospital* 43 : 405-409.
- SCHUKARDT, V. T.; RODE, L. J.; FOSTER, J. W. e OGLESBY, G. (1949) — An anti-brucella factor in peptones. *J. Bacteriology* 57 : 1-8.
- SILVA, N. N. da (1943) — A brucelose no Rio Grande do Sul. *Arq. Dept. Estad. Saúde. R. G. Sul* 4 : 7-14.
- SILVA, N. N. da (1947) — Brucelose. O problema humano e veterinário no Rio Grande do Sul. *Hospital* 32 : 925-938.
- SPINK, W. W. (1952) — The laboratory in the diagnosis of brucellosis. *Amer. J. Clin. Pathol.* 22 : 201-211.
- SPINK, W. W. (1952a) — Correlation of a rapid slide agglutination test (Castañeda) with a tube agglutination test in screening suspected cases of human brucellosis. *J. Lab. Clin. Med.* 40 : 593-600.
- SPINK, W. W.; McCULLOUGH, N. B.; HUTCHINGS, L. M. e MINGLE, C. R. (1952) — Diagnostic criteria for human brucellosis. Report N.º 2 of the National Research Council, Committee on public health aspects of brucellosis. *J. A. M. A.* 148 : 805-808.
- WEST, D. E. e BORMAN, E. K. (1945) — The culturing of blood clots for *Brucella* organisms. *J. Infect. Diseases* 77 : 187-192.
- WILSON e MILES — Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and immunity. Baltimore, Williams and Wilkins, 1946.