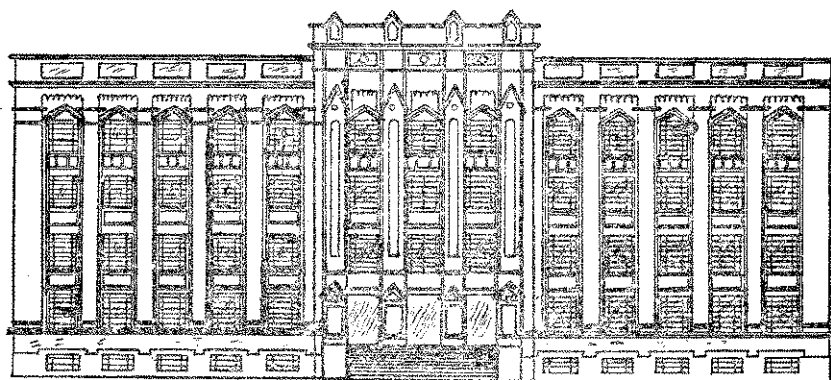


REVISTA
DO
INSTITUTO ADOLFO LUTZ

VOLUME 18

1958

NÚMERO ÚNICO



SÃO PAULO - BRASIL

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ aparece anualmente, em fascículos ou em um só volume, e tem como diretor o Dr. Ariosto Büller Souto, auxiliado por uma comissão de três membros, técnicos superiores do Instituto.

A correspondência referente à Revista deverá ser endereçada ao diretor do Instituto Adolfo Lutz, DR. ARIOSTO BÜLLER SOUTO, avenida Dr. Arnaldo, 3, caixa postal 7.027, São Paulo, Brasil.

Comissão de redação:

MARIA ELISA WOHLERS DE ALMEIDA
AUGUSTO DE E. TAUNAY
CÍCERO NEIVA

Secretária da Redação:

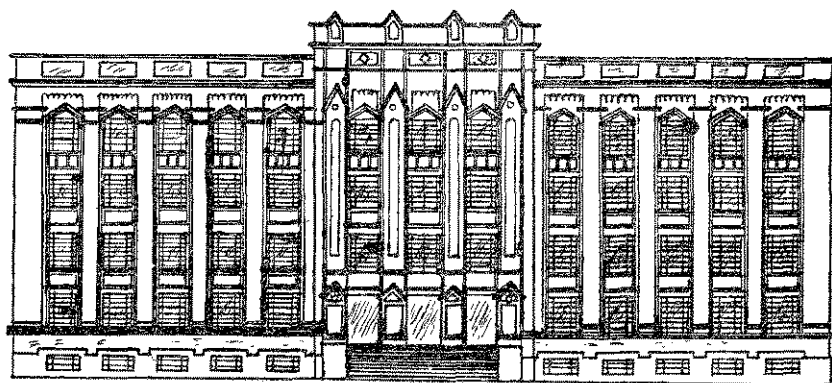
MARIA NYDIA DE CASTRO

REVISTA
DO
INSTITUTO ADOLFO LUTZ

VOLUME 18

1958

NÚMERO ÚNICO



SÃO PAULO — BRASIL

SUMÁRIO

	<i>Págs.</i>
J. B. FERRAZ DE MENEZES JÚNIOR — A estrutura microscópica de sementes oleaginosas comestíveis	5
AUGUSTO DE E. TAUNAY, HÉLIO MARTINS, JÚLIO TOPOROWSKI, L. A. DE TOLEDO, ETHEL S. PEIXOTO — Investigações laboratoriais sôbre a enterite infantil por <i>E. coli</i> G.E.I.	45
DAVID CODA, NICOLINO FALCI, FRANCISCO AUGUSTO TEIXEIRA MENDES — Contribuição para o estudo e a profilaxia da moléstia de Chagas no Estado de São Paulo	83
MARCELO OSWALDO ALVARES CORRÊA — Estudo da ação terapêutica da ditiazanina na estrogiloidose e na tricocefalose humana	123
J. B. FERRAZ DE MENEZES JÚNIOR — Sôbre uma nova variedade de pêssego contendo amido	133
MARCELO OSWALDO ALVARES CORRÊA — Conceitos atuais da isoporose humana	147

A ESTRUTURA MICROSCÓPICA DE SEMENTES OLEAGINOSAS COMESTÍVEIS (*)

J. B. FERRAZ DE MENEZES JÚNIOR (**)

O presente trabalho tem por fim proporcionar, aos que se dedicam à Microscopia Alimentar, a identificação microscópica das sementes oleaginosas comestíveis, comumente utilizadas na confecção de doces, bombons e similares.

Na sua elaboração foi obedecido o mesmo critério e orientação adotados em trabalho anteriormente publicado (MENEZES, 1949), tendo em vista a falta de literatura especializada sobre o assunto em nosso idioma.

A dificuldade em estabelecer-se a diferenciação dos caracteres histológicos de estruturas, de algum modo semelhantes, peculiares a algumas sementes oleaginosas comestíveis, foi uma das razões que nos levaram a escolher este assunto para a elaboração do presente trabalho.

Com isto estaríamos continuando a série de publicações a que nos propuzemos fazer com o fim de divulgar a Microscopia Alimentar, modalidade de análise imprescindível no controle analítico bromatológico, quer oficial, para efeito de fiscalização de alimentos, quer industrial para efeito de verificação da matéria-prima a ser utilizada na confecção de produtos alimentícios e, ainda, pouco aplicada entre nós, muito embora seja centenário o seu uso pela maioria dos países de todos os continentes.

Estando o Instituto Adolfo Lutz empenhado na publicação do segundo volume dos "Métodos de Análises Bromatológicas", e que versará sobre "Microscopia Alimentar", este trabalho será, por certo, uma contribuição oportuna no sentido de abreviar-lhe a realização.

(*) Trabalho apresentado à II Jornada Brasileira de Bromatologia, realizada no Rio de Janeiro, em maio de 1957.

(**) Químico do Instituto Adolfo Lutz.

Consideradas as sementes oleaginosas comestíveis mais estimadas e de maior consumo em nosso país, trataremos aqui, pela ordem de importância, das seguintes: NOZES (européia e americana), AMÊNDOA, AVELÃ, AMENDOIM, CACAU, CÔCO DA BAHIA, CASTANHA DE CAJU, CASTANHA DO PARÁ, GERGELIM e GIRASSOL.

Logo após a classificação botânica da planta de que procede cada semente, serão dadas a origem, as espécies e variedades cultivadas em nosso país e no estrangeiro, a morfologia e a estrutura microscópica de seus frutos e sementes, bem como a composição química, produção, comércio e usos.

Apresentaremos desenhos originais e descrição dos elementos histológicos das referidas sementes, sempre com 400 diâmetros de aumento, a fim de possibilitar comparação entre alguns dos detalhes morfológicos semelhantes, fazendo-se nossas observações sempre a partir da superfície e não através de cortes histológicos, pelo fato de se encontrarem, tais substâncias, geralmente moídas ou pulverizadas, na maioria dos produtos alimentícios em que se acham presente.

Por fim, daremos a Parte Técnica, com a definição dos vários produtos de que fazem parte tais sementes e o modo de separá-las da mistura para permitir a preparação de lâminas que possibilitem a identificação microscópica, bem como das demais substâncias de que se compõe cada produto examinado.

NOZES

São frutos da família das Juglandáceas a que pertencem as quinze espécies do gênero *Juglans*, difundidos por toda a zona temperada do hemisfério boreal e da Europa Meridional.

Desta família, há, ainda, o gênero norte-americano *Carya*, do qual existem várias espécies de considerável importância comercial nos Estados Unidos (Califórnia), como *C. pecan*, *C. ovata*, etc.

No Brasil, depois de algumas experiências, cultivam-se, já de algum tempo, a noqueira "Pecã" e algumas de suas variedades aqui aclimatadas, com resultados promissores, de modo a se esperar, para muito em breve, independência da importação da noz européia.

Do gênero *Juglans*, há várias espécies cultivadas em diferentes países: *J. régia* L. ou noz européia, *J. cinerea* L., *J. sieboldiana* Maxim., *J. nigra* L.

J. nigra, de origem americana, tem caracteres botânicos, bem como sabor e aroma ligeiramente diferentes; possui película negra envolvendo a semente, de sabor sensivelmente adstringente e resinoso, motivo pelo qual é considerada produto de valor comercial inferior ao da noz européia, muito embora esteja comumente de permeio com as nozes, importadas, de primeira qualidade.

WINTON (1932), classifica os dois gêneros de nozes da seguinte forma:

Casca indeiscente (Juglans)

Noz de forma isodiamétrica, com quatro valvas:

noz lisa	noz inglesa (<i>J. regia</i> L.)
noz rugosa	noz negra (<i>J. nigra</i> L.)

Noz alongada com dois septos internos:

noz lisa	noz japonesa (<i>J. sieboldiana</i> Maxim.)
noz rugosa	noz manteiga (<i>J. cinerea</i> L.)

Casca separada por quatro segmentos (Carya)

Noz alongada, cilíndrica, com

casca fina	noz Pecã (<i>C. pecan</i> E. et G.)
------------------	--------------------------------------

Noz achatada, angulosa, tão

larga quanto longa, com cas-

ca fina	noz Hickory (<i>C. ovata</i> Koch.)
---------------	--------------------------------------

Caracteres diferenciais entre a noz européia e a americana "Pecã"

A noz européia tem a forma arredondada, casca muito dura, rugosa e ondulada, enquanto que a *Pecã* é alongada e possui casca fina, frágil e lisa.

Trataremos aqui, unicamente, da estrutura microscópica da noz européia, *Juglans regia*, e da noz americana, *Carya pecan*, por serem as que mais comumente são encontradas em nossos mercados.

A película (espermoderma) da noz européia apresenta somente três camadas, enquanto que a da *Pecã* mostra quatro camadas, notando-se que a noz européia não possui a subepiderme encontrada na *Pecã*.

Os estômatos, na noz européia, são claros, volumosos, com células estomáticas sensivelmente curvas e salientes; os da *Pecã* são de paredes mais estreitas, ostíolos maiores e possuem côr caracteristicamente parda.

A película da semente da noz Pecã é aderente e não se desprende nem pelo tratamento com água quente, o que não acontece com a noz euoropéia.

BIBLIOGRAFIA

MENEZES JÚNIOR, J. B. F. — 1949 — Investigações sôbre o exame microscópico de algumas substâncias alimentícias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 9: 18-77.

WINTON, A. L. & K. B. WINTON — 1932 — The Structure and Composition of Foods. Vol. 1. John Wiley & Sons, Inc., New York, pág. 390.

NOZ EUROPEIA

Juglans regia L.

Juglandáceas

Sinonímia: Noz inglêsa, noz persiana.

A noz é o fruto drupáceo da nogueira, árvore originária da Pérsia e do Himalaia e cultivada no sudoeste da Europa, por tôda a zona mediterrânea, na Inglaterra, no Cáucaso, nos Estados Unidos (Califórnia) e em quase todos os países de clima temperado.

Morfologia da noz euoropéia — A noz tem forma arredondada, com casca de contextura pétrea, resistente, corrugada, mais ou menos espêssa, porém macia ao toque; sutura saliente e fendida, possibilitando a sua abertura com uma faca. Porções laminadas da casca dividem os dois cotilédones em quatro valvas, prêsas na base interna da casca e livres na parte superior.

A semente tem dois cotilédones volumosos, cerebriformes, sulcados, enrugados, de superfície irregular e de côr amarelo-pardacenta; são ricos em aleurona e em óleo, e não contêm amido.

A casca ou pericarpo tem estrutura constituída, na parte mais externa, por células pétreas pequenas, incolores e por células pétreas grandes, na porção interna.

ESTRUTURA MICROSCÓPICA — *Espermoderma* — a) *epiderme superior* (observada em superfície de vista) — é constituída de células volumosas, poligonais ou isodiamétricas, de paredes retas e ligeiramente espêssas; b) *estômatos* — grandes, claros, com células estomáticas volumosas, pronunciadamente curvas e salientes da superfície superior; c) *camada média* — parênquima típico, formado de pequenas células achatadas, ligeiramente alongadas e desordenadas, dando a impressão de estarem comprimidas, entre as quais

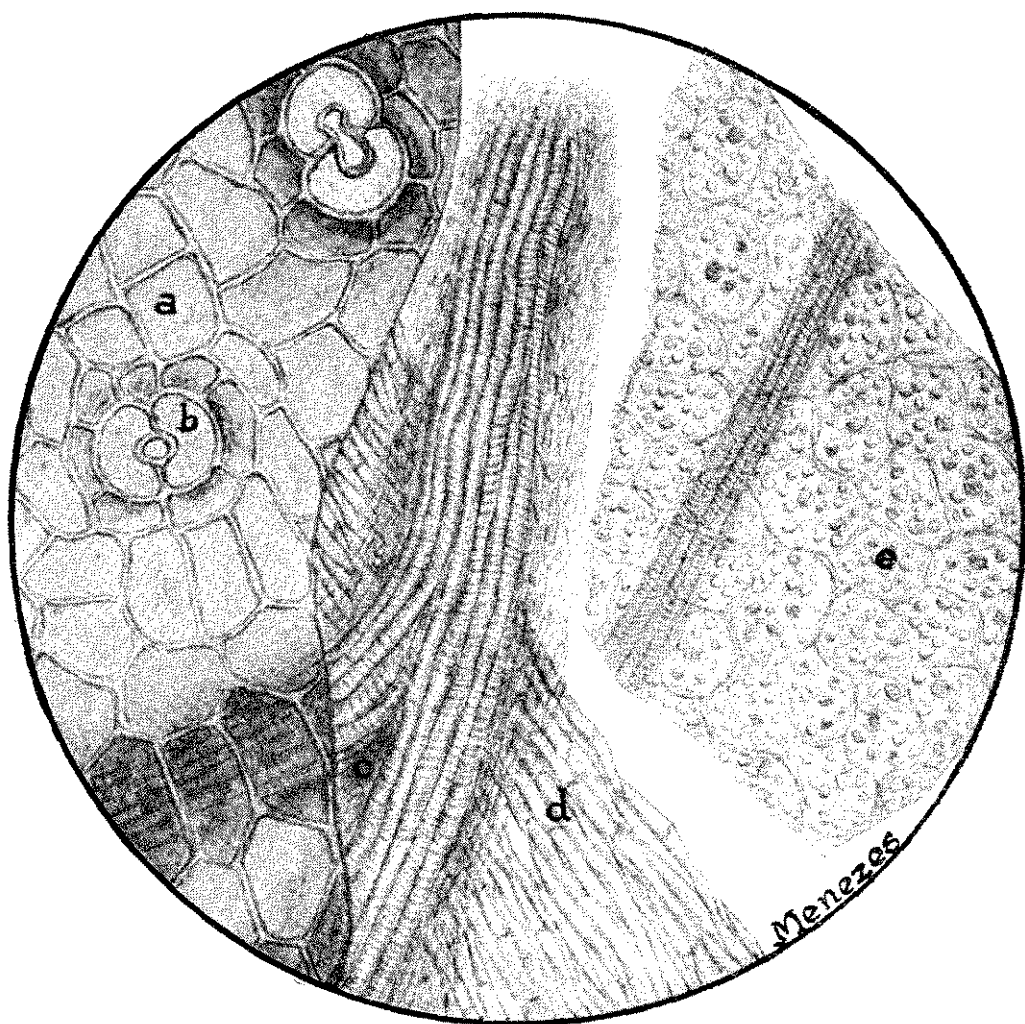


Fig. 1 — Elementos histológicos de nóz (européia) (400 x) - Original.

correm feixes de vasos espiralóides de pequena espessura; d) *epiderme inferior* — de células pequenas, de paredes finas, irregularmente alongadas no sentido tangencial, cuja observação microscópica só se processa claramente, após prévio tratamento do espermoderma com solução de hidrato de cloral ou de hipoclorito de sódio. e) *Cotilédone* — as células do parênquima são isodiamétricas, de paredes finas, conteúdo rico em gotículas de óleo e granulações de aleurona, de pequenas proporções, jamais atingindo 10 μ de diâmetro, notando-se feixe de diminutos vasos espiralóides, encontrável principalmente entre a camada de células do endosperma.

O endosperma é semelhante ao da noz americana.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA — Segundo KIGER (1951), a noz comercial, bem seca, contém: unidade, 3,95%; prótidos, 14,62%; lípides 68,00%; glicídeos, 12,91%; celulose, 1,40%; e sais minerais, 1,92% (cálcio 75 mg % e fósforo 500 mg %). Contém ainda lecitina, fitina, vitamina C, globulina (juglandina).

A globulina da noz foi, anteriormente, denominada corilina por ser considerada idêntica à da avelã (*Corylus avellana* L.); mais tarde, pelo método de Hasmann, encontraram-se, na globulina da noz, 0,42% a mais de amônia, e passando então a mesma a denominar-se juglandina. O óleo contém fitosterol (MENOZZI & MORESCHI, 1910).

Conforme esclarece WINTON (1932), as nozes dos diversos grupos se diferenciam pelo conteúdo de proteína, que varia de 15 a 30 g % e de óleo, que oscila entre 60 e 70 g %. Enquanto umas são ricas em proteína e pobres em óleo (*Juglans nigra*, *J. sieboldiana* e *J. cinerea*), outras, ao contrário, apresentam elevado teor de óleo e pequena quantidade de proteína (*Juglans regia*, *Carya pecan* e *C. ovata*).

USOS — A noz é de alto valor nutritivo em razão de sua riqueza em óleo e proteínas. Serve para ser incorporada a outros produtos com o fim de aumentar-lhes ou de modificar-lhes os elementos nutritivos constitucionais.

É utilizada como fruto de mesa, principalmente nas festas natalinas e de princípio de ano, e empregada na confecção de bolos, biscoitos, bombons e doces diversos. Nos países de origem, extraem óleo ou azeite comestível, preferido por muitos ao de oliva, e a torta é aproveitada no preparo da farinha de nozes. Da casca verde retira-se o tanino, largamente empregado para fins industriais e medicinais.

Em muitos países, utiliza-se a casca de noz moída na fraude de numerosas substâncias alimentícias, principalmente do café em pó e de condimentos (canela, cravo, pimenta do reino, etc.).

Até o momento, em nossos trabalhos rotineiros de microscopia alimentar, para fins de fiscalização, não tivemos oportunidade de assinalar a condenação de um só produto alimentício por conter o pó de cascas de nozes moídas.

BIBLIOGRAFIA

KIGER, J. — 1951 — La Biscuiterie. Librairie des Sciences, Girardot & Cie., Paris, pág. 299.

MENOZZI, A. & A. MORESCHI — Atti accad. Lincei, 19 (1): 187; *Chem. Abstracts*, 4: 2455, 1910.

WINTON, A. L. & K. B. WINTON — 1932 — The Structure and Composition of Foods. Vol. 1 John Wiley & Sons, Inc., New York, pág. 391.

NOZ AMERICANA

Carya pecan Engler et Graebn

Juglandáceas

Originária da América do Norte (bacia do Mississipi), encontra-se hoje bastante difundida no sul dos Estados Unidos, sem entretanto, ter sido possível precisar-se o local de sua irradiação.

Segundo WINTON (1932), é classificada, também, como *Juglans pecan* Marsh. e *Hicoria pecan* Brit. BITTENCOURT, com referência a esta espécie, cita além dêsses, os seguintes sinônimos botânicos: *Juglans illinoensis* Wagenheim, *J. angustifolia* Aiton, *J. cylindrica* Poirét, *J. olivaeformis* Michaux e *Carya olivaeformis* Nuttal.

A noz Pecã é cultivada nos Estados Unidos, apresentando grande importância comercial.

No Brasil, vêm sendo cultivadas nogueiras Pecã e outras variedades.

A introdução desta planta em nosso país se fez através de sementes trazidas por norte-americanos, uma das quais, oferecida ao engenheiro agrônomo Dr. Luiz Teixeira Mendes, foi plantada em Piracicaba no ano de 1910, onde encontrou ambiente propício ao seu desenvolvimento.

Limeira, centro produtor de diversas frutas, foi o local escolhido para a cultura da nogueira Pecã e outras variedades como: "Frot-scher", "Moneymaker", "Dieberg", "Stuart", "Success" e "Schley", que ali se aclimataram perfeitamente.

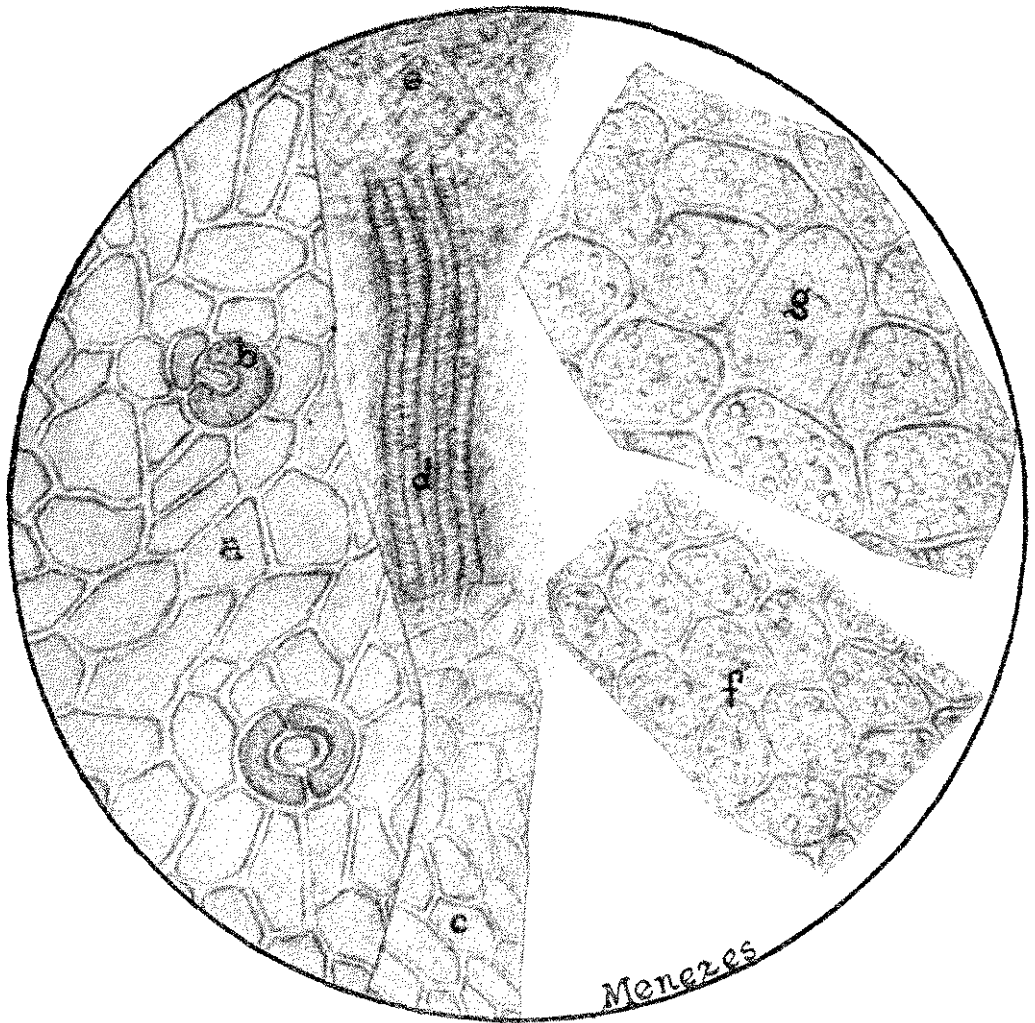


Fig. 2 — Elementos histológicos de nóz (americana) (400 x) - Original.

As primeiras mudas de noqueira Pecã, destinadas ao início de cultura no Brasil, aqui chegaram em 1929, procedentes da Flórida.

Mais tarde verificou-se que outras variedades condiziam melhor com o nosso clima e solo. Adquiriram-se, então, na Califórnia, mudas das variedades "Frotscher" e "Mahan", obtendo-se os melhores resultados.

A "Mahan" produz frutos maiores e é a que melhor se adapta em nosso meio, porém a "Frotscher", apesar de apresentar frutos menores, é mais produtiva. A noz Pecã tem sabor muito agradável e não deixa resíduo taninoso, peculiar à noz européia. O acondicionamento destas nozes é feito em caixas, devido à fragilidade da casca que é muito fina.

Com esta feliz iniciativa, a produção brasileira irá eliminar, pouco a pouco, a importação custosa das nozes estrangeiras.

MORFOLOGIA DA NOZ PECÃ — A noz é alongada, de casca delgada e lisa, quebrável facilmente, afilada nas duas extremidades e apresentando na parte média, em seção transversal, forma cilíndrica.

O perisperma e os cotilédones são semelhantes aos da noz européia. O cotilédone é rico em óleo, aleurona e não contém amido.

ESTRUTURA MICROSCÓPICA — *Espermoderma* — *epiderme superior* — constituída de células de paredes retilíneas, tangencialmente alongadas, algumas isodiamétricas e pouco espessas; b) *estômatos* — grandes, salientes, de côr parda, apresentando abertura (ostíolo) maior e células estomáticas mais estreitas que as da noz européia, sendo, no todo, ligeiramente menores; c) *subepiderme* — de células semelhantes às da epiderme superior, porém menores; d) *camada média* — parênquima formado de pequenas células achatadas, ligeiramente alongadas e desordenadas, dando a impressão de estarem comprimidas, entre as quais correm feixes de vasos espiralóides de pequena espessura, como na noz européia; e) *epiderme inferior* — de contextura irregular, sem detalhes característicos, com aparência de massa heterogênea de côr parda. f) *Endosperma* — de células isodiamétricas contendo granulações de aleurona e gotas oleosas. g) *Cotilédone* — formado de células isodiamétricas semelhantes, porém, maiores que as do endosperma e mais ricas em matéria graxa.

CARACTERES DIFERENCIAIS — A noz Pecã possui película (espermoderma) intensamente colada à semente, da qual não se des-

prende nem pela água quente. Essa película apresenta, ao microscópio, quatro camadas, inclusive a subepiderme, enquanto que a noz européia exhibe somente três camadas e não possui subepiderme. Os estômatos da noz Pecã são de côr parda e não claros e incolores, ostíolos maiores e paredes das células estomáticas mais estreitas e irregulares que as da noz européia.

A epiderme superior da noz Pecã é constituída por células alongadas e de paredes retilíneas, e, a da noz européia, por células isodiamétricas ou poligonais e mais espessas.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA — A média de 14 análises realizadas por FRIEDEMANN (1920), revelou os índices seguintes: umidade, 3,20%; prótidos, 11,00%; lípides, 71,99%; glicídeos, 10,04%; celulose, 2,20%; e sais minerais, 1,57%. Contém, ainda, lecitina, colesterol, vitamina C e globulina.

OSBORNE & HARRIS (1903), sugeriram que a globulina das nozes fôsse denominada Juglandina. Esta globulina foi anteriormente identificada como Corilina — que é a globulina da avelã.

USOS — Idênticos ao da noz européia.

BIBLIOGRAFIA

BITTENCOURT, P. V. C. — s. d. — A cultura da noqueira pecã. A. B. C. do Lavrador Prático, n.º 54, Edições Melhoramentos.

FRIEDEMANN — 1920 — *J. Am. Chem. Soc.*, 42: 2286.

OSBORNE & HARRIS — 1903 — *J. Am. Chem. Soc.*, 25: 848.

WINTON, A. L. & K. B. WINTON — 1932 — The Structure and Composition of Foods. Vol. 1. John Willey & Sons, Inc., New York, pág. 399.

AMÊNDOA

Amygdalus communis L. — *Prunus communis* Fritsch.

P. amygdalus Stokes — *P. amygdalus* var. *dulcis* D. C.

Rosáceas

Sob o nome de amêndoa, entende-se a fruta da amendoeira, árvore originária do Oriente, provavelmente das regiões subtropicais da China e cultivada na Europa, em tôda a zona mediterrânea; Espanha; Portugal; Itália; França; nos Estados Unidos (Califórnia) e em quase tôdas as partes de clima temperado do globo.

WINTON (1932), acredita não haver mais razão para se supor seja a amêndoa uma variedade de pêssego.

São conhecidos dois grupos de amêndoas: a amêndoa doce (var. *dulcis*), que é comestível, medicinal e empregada para a extração do óleo de amêndoas doces e a amêndoa amarga (var. *amara*), também medicinal, e que produz o óleo de amêndoas amargas.

MORFOLOGIA DO FRUTO — O fruto, drupa oblonga, um pouco achatada e coriácea, tem o pericarpo, de algum modo, semelhante ao do pêssego, apresentando pêlos no epicarpo esverdeado. Contém uma ou, raramente, duas amêndoas.

MORFOLOGIA DA AMÊNDOA DOCE — A amêndoa doce é oval, oblonga, de casca friável ou dura, conforme a variedade; externamente percorrida por sulcos ou pequenas cavidades irregulares, é lisa na parte interna. Pesa, em média, 0,7 g, podendo variar de 0,5 a 1,2 g.

Possui uma ou duas sementes de 2 a 3 cm de comprimento por 1,5 a 2 cm de largura e de 7 mm a 1 cm de espessura na parte mediana, com revestimento ou tegumento espesso de contextura rugosa, áspero e de côr pardo-canela, fortemente aderente à superfície, mas se destacando com facilidade, sob a pressão dos dedos, depois de mergulhado em água quente. A semente, desprovida do tegumento, apresenta-se sob a forma de massa semidura, de branco leitoso, baço, brilhante na periferia e formada por dois grossos cotilédones, alongados, ovóides, plano-convexos. Possui sabor doce e agradável.

PRODUÇÃO E COMÉRCIO — Segundo KIGER (1951), os principais países produtores são, por ordem de importância: Itália, Espanha, França, Argélia, Marrocos, Tunísia, Portugal, Síria e Pérsia. De acôrdo com a origem e o tipo, as amêndoas têm caracteres bastante particulares e variáveis segundo o fim a que se destinam: industrialização do óleo; preparo de confeitos, de massas, etc. Pequenas ou grandes, arredondadas, oblongas, com maior ou menor proporção de óleo, de aroma ou de sabor característicos, e podendo conter, conforme a procedência, grande ou pequena quantidade de amêndoas amargas.

Para fins comerciais e de exportação, as amêndoas doces são classificadas pela consistência das cascas em: *duras* — quando só se quebram com o martelo e *moles* — quando se partem, facilmente, pela pressão dos dedos. São acondicionadas em sacos de 50 quilos, quando em casca e, em sacos de 100 quilos, sem cascas. Estas, quando partidas pela metade ou frações menores, alteram-se facilmente e, o parênquima, de branco, passa a amarelo, exalando cheiro oleoso, lembrando ranço.

ESTRUTURA MICROSCÓPICA — *Espermoderma* — a) *epiderme* externa constituída de células esclerenquimatosas grandes, irregulares, truncadas nas extremidades e tomando o contôrno de tonel; paredes espessas e porosas, alinhadas em forma de paliçada ou de papilas, quando observadas em corte histológico; b) uma destas células, fragmentada e sôlta no campo microscópico; c) uma outra destas mesmas células observada com o foco em sua parte truncada, superior; *subepiderme* — formada de células poligonais ou isodiamétricas, de paredes pouco espessas, fortemente pigmentadas por um conteúdo de côr parda; e) *camada média* — diferenciada por um tecido esponjoso cujas células, inicialmente semelhantes às da subepiderme, vão se degenerando, para se tornarem cada vez menores, achatadas e comprimidas, como são observadas na epiderme interna; no interior da camada média correm feixes vasculares estreitos, constituídos por vasos espiralóides; f) *célula cristalífera* — contendo cristal de oxalato de cálcio em roseta, encontrável, ocasionalmente, entre os feixes de vasos. g) *Endosperma* — constituído por uma única fileira de células ligeiramente quadrangulares, contendo grãos de aleurona e por fina camada de células irregulares, achatadas e comprimidas, que sômente pode ser observada, nitidamente, em cortes histológicos. *Cotilédones* — h) *epiderme* — de células pequenas com conteúdo aleuro-oleaginoso; i) *parênquima do cotilédone* — formado de pequenas células poligonais, ricas em óleo, apresentado sob forma de pequenas gotas e por grãos de aleurona de vários tamanhos; numerosos feixes de vasos finos são encontrados na face plana de contato dos cotilédones. j) *Espermoderma ou pele da semente* — observada à lupa com aumento de 50 diâmetros — são vistas numerosas células esclerosadas da epiderme externa (a) como se fôssem vesículas ou papilas, umas inteiras, outras achatadas ou partidas.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA — KIGER (1951), dá para a amêndoa européia, com casca, os seguintes teores: umidade, 6,20%; lípides, 54,8 g %; prótidos, 23,00 g %; glicídeos, 14,40 g %; celulose, 3,10 g %; e sais minerais 2,90%. WINTON (1932), determina para as amêndoas, com casca, da Califórnia: água, 4,8; lípides, 54,9; prótidos, 21,0; glicídeos, 14,3; celulose, 3,00; e sais minerais, 2,0%.

As amêndoas doces encerram emulsina, fermento hidrolisante, porém não possuem o glicosido cianídrico encontrado nas amêndoas amargas (RICHAUD, 1921).

USOS — A amêndoa doce é uma das sementes oleaginosas mais estimadas em todos os recantos da Terra. E' quase de uso obrigató-

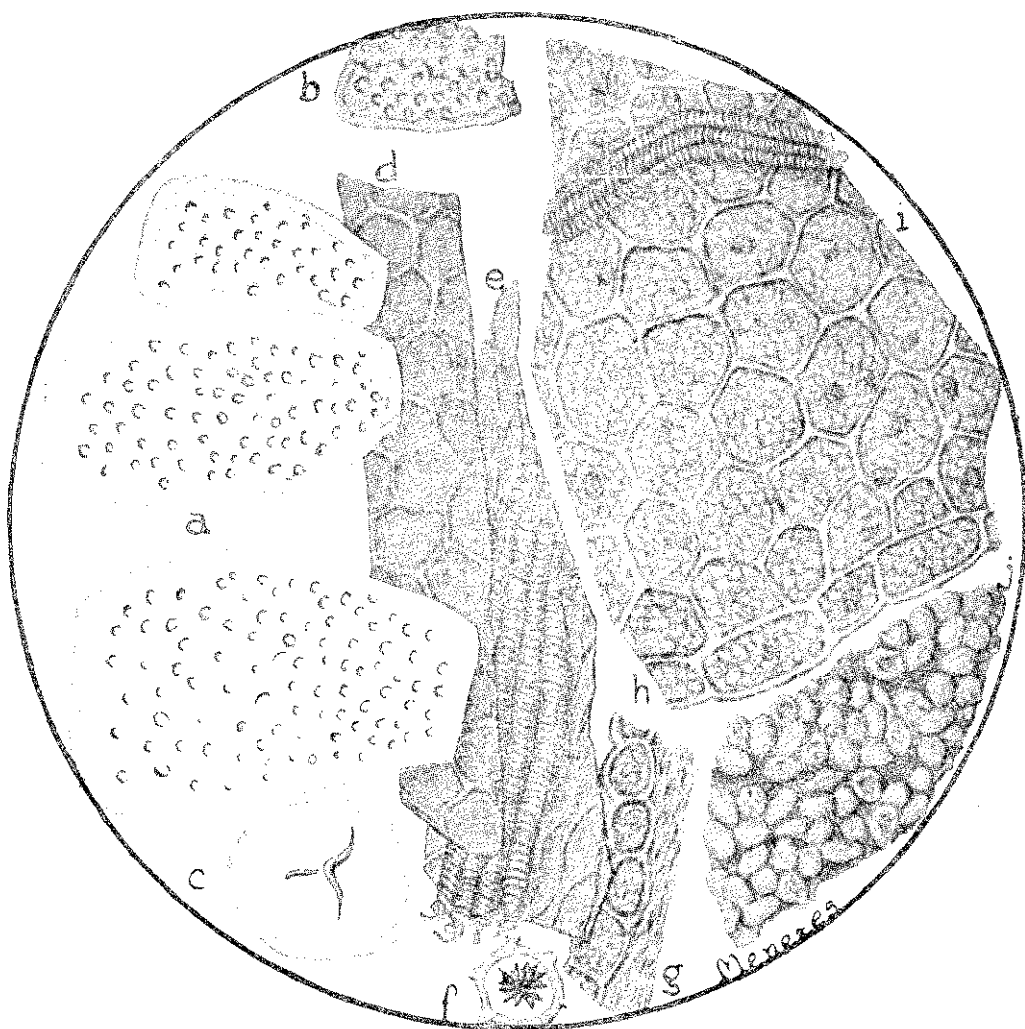


Fig. 3 — Elementos histológicos da amêndoa (50 e 400 x) - Original.



rio nas festas de fim de ano. Com ela, desprovida da película (espermoderma), são preparados bolos e doces caseiros, muito apreciados e, é indispensável na industrialização de numerosos produtos, tais como: chocolates com amêndoas, bombons, “pralinés”, “nougats”, “marzipan”, confeitos, drageiados, ovos ou amêndoas confeitadas, balas, bolachas, bolos, “torrones”, etc. Utilizada para a extração do óleo de amêndoas, que é indicado como laxativo brando para crianças; na preparação de linimentos, de emulsões e de produtos de perfumaria (cremes, pomadas, *Cold-cream*, etc.).

BIBLIOGRAFIA

KIRER, J. — 1951 — La Biscuiterie. Librairie des Sciences, Girardot & Cie., Paris, págs. 290, 281.

RICHAUD, A. — 1921 — Précis de Thérapeutique et de Pharmacologie. Masson & Cie. Éditeurs, Paris, pág. 895.

WINTON, A. L. & K. B. WINTON — 1932 — The Structure and Composition of Foods. Vol. 1. John Wiley & Sons, Inc., New York, págs. 476, 480.

AMÊNDOA AMARGA

Prunus amygdalus var. *amara* D. C.

Amygdalus communis var. *amara* L.

Rosáceas

A origem da amendoeira, que produz a amêndoa de variedade amarga, é a mesma da variedade doce; como, também, são idênticos os locais onde é cultivada.

MORFOLOGIA DA AMÊNDOA AMARGA — Os caracteres morfológicos da amêndoa amarga são, em sua maioria, os mesmos da amêndoa doce, diferindo na forma, que é ligeiramente arredondada; no tamanho, um pouco menor; e na composição química, cujo amargo peculiar se deve à presença, nos tecidos, de um glicosido cianogenético — a amigdalina.

Guignard, segundo informa COLLIN (1908), determinou a localização da emulsina e da amigdalina em pontos diferentes dos tecidos da amêndoa. Enquanto a emulsina se acha localizada no parênquima cortical (periciclo, feixes fibro-vasculares e endoderma), a amigdalina se encontra na porção cotiledonar da amêndoa amarga, portanto, separadas, motivo pelo qual a reação que determina a presença do glicosido cianogenético só se processará pela trituração da amêndoa na presença de água.

ESTRUTURA MICROSCÓPICA — Os elementos histológicos da amêndoa amarga são, precisamente, os mesmos encontrados na amêndoa doce.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA — É também semelhante à da amêndoa doce quanto aos teores de lípidos, prótidos, glicídeos, etc. Existe porém, na amêndoa amarga, porção considerável de emulsina (diástase) e de amigdalina (glicosido), que, em presença da água, ao ser triturada a amêndoa, provocam uma reação na qual a amigdalina é desdobrada ou hidrolisada pela emulsina, dando, em consequência, glicose, aldeído benzóico e ácido cianídrico, este último substância volátil, eminentemente tóxica.

O óleo, obtido por pressão das amêndoas amargas, não é nocivo, motivo pelo qual substitui, freqüentemente, o de amêndoas doces.

USOS — A maior aplicação das amêndoas amargas é a extração do óleo. Ao natural, não são comestíveis, por serem venenosas, pois, se forem ingeridas em grande número, ocasionam distúrbios graves e até mesmo a morte, devido à presença do ácido cianídrico. Entretanto, são medicinais e constam de várias farmacopéias como droga muito usada no passado e tida como febrífugo (DUJARDIN), sendo, ainda, aplicada na preparação de produtos de perfumaria. Entra, em pequena proporção, nas fórmulas de vários produtos de confeitaria (bolos, tortas, doces, bombons, etc.), com o fim de lhes emprestar aroma e sabor característicos.

BIBLIOGRAFIA

COLLIN, E. — 1908 — Précis de Matière Médicale, 2e Ed., Octave Doin, Éditeur, Paris, pág. 448.

DUJARDIN, B., A. GILBERT & P. YVON — 1896 — Formulaire. 9e. Ed., Octave Doin, Éditeur, Paris, pág. 28.

AVELÃ

Corylus avellana L.

Betuláceas

A avelã é o fruto sêco ou aquênio, de pericarpo lenhoso, de arbusto que habita as regiões temperadas e boreais da Europa, da América setentrional, do norte da Índia, onde, também, se encontra em estado selvagem.

A cultura de espécies e variedades de aveléiras possibilitou melhorar a qualidade desses frutos tão estimados.

WINTON (1932) e BAILLON (1886), citam, como principais, as espécies cultivadas seguintes:

AVELEIRAS EUROPEIAS — *Corylus avellana* L., *C. pontica* Kock, *C. maxima* Mill., *C. tubulosa* W., *C. colurna* L. e suas variedades.

AVELEIRAS AMERICANAS — *C. rostrata* Ait., *C. americana* Walt e *C. californica* Rose.

A espécie preferida e mais intensamente cultivada, pelas suas qualidades, é *C. avellana* L.

MORFOLOGIA DO FRUTO — A avelã, de forma oblonga ou isodiamétrica, conforme a espécie ou variedade, contornada pela casca ou pericarpo, de consistência pétrea, com, aproximadamente, 1 mm de espessura, tem a superfície lisa, côr pardo-clara, marcada por grosseiras estrias pardo-escuras, que, partindo da base ao ápice, apresentam larga cicatriz na base do fruto, e, no ápice, fina camada de pêlos com o aspecto de poeira acinzentada. Possui uma só loja, pelo abortamento da outra, e, também, uma única semente, constituída por cotilédones grossos, brancos e carnudos, envoltos por uma película (espermoderma), de côr parda.

Conforme a procedência, distinguem-se, no comércio, vários tipos de avelãs, que podem ser caracterizados não só pelo tamanho, forma e côr dos frutos, como pela natureza maior ou menor da casca.

Retira-se a película, que não se destaca pela água quente como a da amêndoa, tostando-se, ligeiramente, as sementes de avelã, que são, em seguida, passadas em crivos especiais de malhas largas, de onde saem perfeitamente limpas ou descascadas.

ESTRUTURA MICROSCÓPICA — *Pericarpo* — a) restos da última porção do pericarpo, correspondentes ao parênquima pardo, que permanecem, espaçadamente, aderentes ao espermoderma; êste parênquima desorganizado é formado de células isodiamétricas de paredes onduladas. *Espermoderma* — b) *epiderme externa* formada de células mais ou menos poligonais, com espaços intercelulares; c) *hipoderma* — constituído por células semelhantes às da epiderme externa — a semelhança destas células com as do hipoderma dá a impressão de se tratar de um mesmo tecido; d) *parênquima comprimido* de células pequenas, achatadas e irregulares, entre as quais passam feixes de vasos espiralóides de pequenas dimensões. e) *Endosperma* — de células isodiamétricas aderentes ao espermoderma, apresentando conteúdo rico em grânulos de aleurona. f)

Cotilédone — formado de células isodiamétricas de paredes finas, com numerosas gotas oleosas, grãos de aleurona, grandes e alongados e diminutos grãos de amido, arredondados, os quais não ultrapassam a 3 μ de diâmetro; são menores que os do amendoim.

Característica interessante: O amido não está distribuído uniformemente pelos tecidos da semente da avelã. Na parte superior e mais larga da semente, até a região mediana, não contém amido; dêste ponto até 2/3 da parte interna, contém pequena quantidade de amido, de diminuto tamanho, e, daí para a extremidade afilada inferior, é encontrada acentuada porção de grãos de amido, bem maiores que os da região anterior, semelhantes aos da castanha de caju e menores que os do amendoim.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA — A avelã é de composição muito semelhante à da noz. A média de diversas análises feitas por KONIG (1903), é a seguinte: água, 7,0 g %; prótidos, 17,4 g %; lípidos 62,6 g %; glicídeos (inclusive celulose), 10,4 g %; e sais minerais, 2,5 g %. Contém, ainda, globulina denominada por OSBORNE & CAMPBELL (1895), corilina, a qual foi considerada, por muito tempo, como sendo a mesma encontrada na noz européia e em outras sementes, motivo porque tinha o mesmo nome. Mais tarde, ficou provado não serem perfeitamente idênticas, e a globulina da noz passou a chamar-se juglandina.

USOS — A avelã, pelo seu alto valor nutritivo, é indicada na dieta alimentar e de convalescentes. Fruta de sobremesa, muito apreciada e indispensável nas festas natalinas, com ela se preparam doces, bolos caseiros e é utilizada na indústria de balas, chocolates, “pralinés”, “torrones”, bombons, biscoitos, sorvetes, etc.

BIBLIOGRAFIA

- BAILLON, M. H. — 1886 — Dictionnaire de Botanique. Vol. II. Librairie Hachette et Cie., Paris, pág. 248.
- KONIG — 1903 — *Chem. mensch. Nahr. — Genussm.*, 1: 611.
- OSBORNE & CAMPBELL — 1895 — *Connecticut Agr. Exp. Sta. Re.*, pág. 288.
- WINTON, A. L. & K. B. WINTON — 1932 — *The Structure and Composition of Foods*. Vol. 1. John Wiley & Sons, Inc., New York, pág. 405.

AMENDOIM

Arachis hypogea L.

Leguminosas (Papilionáceas)

O amendoim, segundo WETTSTEIN (1944), tem por pátria a América do Sul tropical, muito embora COLLIN (1908) e HERAIL

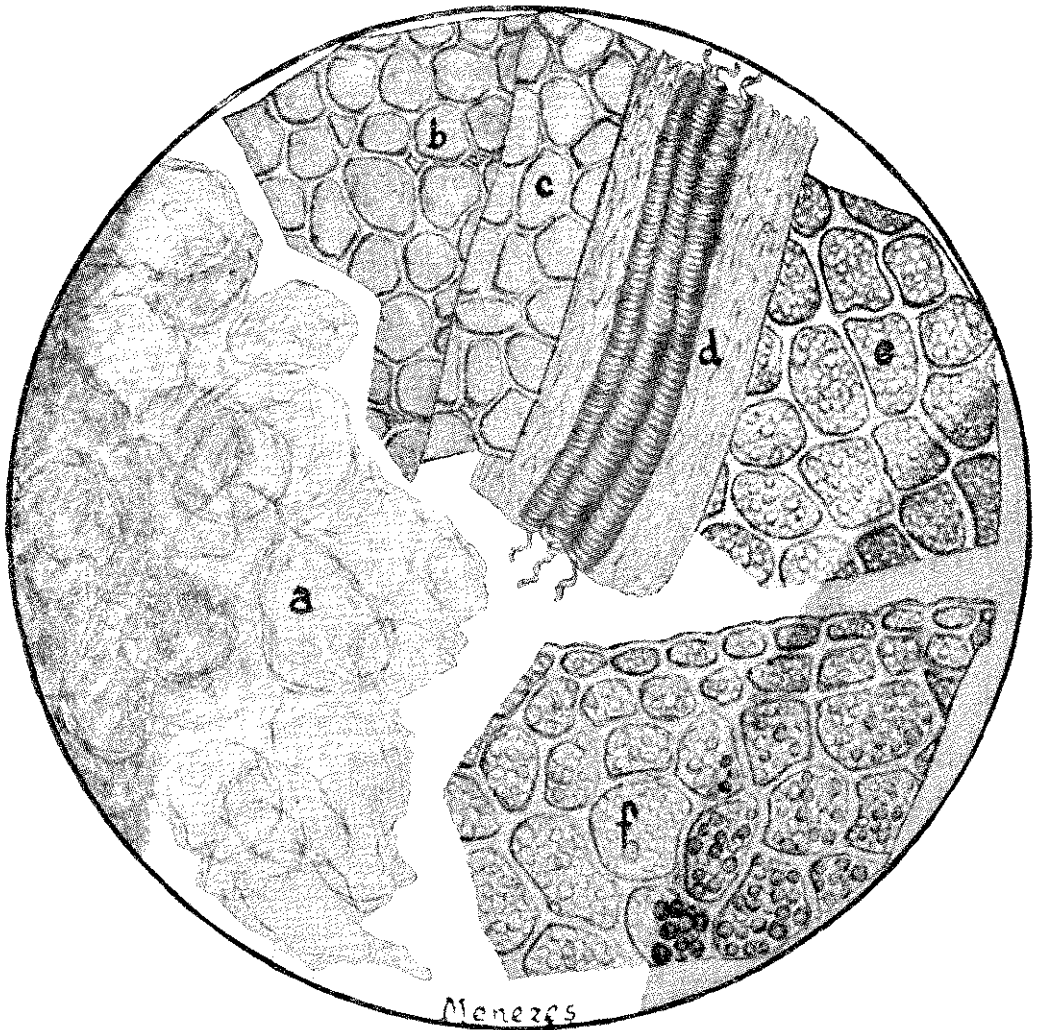


Fig. 4 — Elementos histológicos de avelã (400 x) - Original.

(1927), entre outros autores, acreditem ser o mesmo de origem africana. Para WINTON (1932), e grande maioria de especialistas no assunto, o amendoim seria originário do Brasil.

A cultura é feita em regiões tropicais e subtropicais, sendo numerosas as variedades escolhidas, tanto pelas características organolépticas e morfológicas como pela produtividade, distinguindo-se, entre elas, as seguintes, indicadas por HAGER (1942): *Arachis hypogea* var. *vulgaris* e var. *reticulata*.

No Brasil, o amendoim é intensamente cultivado, visando-se, de modo principal, à extração industrial do óleo comestível, de consumo notadamente elevado, mundial, na base de 70%, em relação aos demais óleos comestíveis. Segundo a Bôlsa de Cereais de São Paulo, as variedades, aqui cultivadas, são as seguintes: Roxo, Pôrto Alegre, Amarelo, Tatu, Comum e Cateto, pertencendo umas à planta de porte ereto e outras à de porte rasteiro.

MORFOLOGIA DO FRUTO — O fruto do amendoim, legume subterrâneo ou geocárpico, indeiscente, de forma cilíndrica ou ovóide-oblonga, com 3 a 5 cm de comprimento por 1 a 1,5 cm de grossura, apresenta casca delgada e quebradiça, de côr amarela ou pardo-acinzentada, lisa na parte interna e rendada, por meio de malhas ou depressões profundas, escavadas entre nervuras longitudinais e transversais salientes na parte externa. O fruto é ligeiramente estrangulado entre as sementes, em geral, de duas a cinco, havendo, todavia, variedades de amendoim com sete; neste caso as sementes não possuem forma alongada e não se afilam nas duas extremidades; são, ao contrário, curtas, irregularmente cilíndricas e achatadas na base e no ápice, por onde se ajustam umas às outras. Possuem de 0,5 a 1,5 cm de comprimento por 0,5 a 1 cm de espessura, recobertas por fina película (espermoderma), lisa, delicada e frágil, de côr vermelha, havana ou amarelo-avermelhada, na parte externa, e incolor ou creme, internamente. Esta película é bastante aderente à semente crua, porém se desprende desta, com facilidade, por fricção entre os dedos, depois de torrada. O amendoim cru é inodoro, de sabor oleoso-adocicado; depois de torrado, adquire aroma e sabor *sui-generis* que o tornam muito apreciado.

ESTRUTURA MICROSCÓPICA — *Espermoderma* — a) *epiderme externa* de células isodiamétricas ou ligeiramente alongadas, de paredes grossas, côr avermelhada, caracteristicamente nodosas, serrilhadas, em forma de contas de rosário, semelhantes às do tecido esclerenquimatoso ou "pulmonar" do pimentão;

b) *subepiderme* — de células poligonais, tamanho médio e de paredes grossas; c) feixe de vasos espiralóides da rafe, que corre por entre os tecidos do espermoderma; d) *parênquima esponjoso* — de células irregulares, ramosas, de paredes grossas, com espaços intercelulares; estas células vão se achatando, reduzindo a espessura das paredes, até se transformarem, na parte mais interna, em emaranhado de células ramosas, bem abertas, de paredes grossas, entrelaçadas, à semelhança de células utriculares ou vermiformes dos cereais, como são vistas em (e); f) *epiderme interna* — constituída por células retangulares, alongadas, de paredes finas, ajustadas, uma após outras, formando fileiras. g) *Endosperma* — formado de células isodiamétricas, de paredes delgadas e sensivelmente onduladas; acha-se aderente à epiderme interna, formando uma só peça, na porção interior do espermoderma. h) *Cotilédone* — *epiderme* de células retangulares, alongadas tangencialmente, de paredes finas, apresentando pequeníssimos grãos de aleurona e estômatos; i, j) *mesófilo do cotilédone*, constituído por células grandes, isodiamétricas, de paredes grossas e porosas, contendo numerosas gotas oleosas, grãos de aleurona e de amido, de forma globular, podendo atingir até 15 μ de diâmetro — os grãos de amido têm, em média, de 6 a 10 μ ; em (i) o parênquima cru é observado em corte transversal, as paredes nitidamente nodosas na divisão das células, e os poros na parte inferior das mesmas; em (j) o mesmo parênquima, raspado, mostrando os nódulos das paredes sem, entretanto, exhibir os poros característicos; k) bloco do parênquima da semente torrada e moída, como é observado nas preparações de produtos que contêm amendoim. Os tecidos de *i*, *j*, *k* são vistos com e sem lugol; em presença deste, os grãos de amido tornam-se azuis no parênquima cru, e têm côr violácea escura, quando torrados, sendo observados como que implantados na massa de proteína e óleo. O óleo torna-se amarelo-claro e a proteína amarelo-cromo, carregado.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA — São os seguintes os dados fornecidos por HAGER (1942): água, 5 a 8,0 g %; lípides, 42, 51 g %; prótidos, 20 a 30 g %; fécula, 8 a 21 g %; celulose, 2 a 5,0 g %; e cinzas, 2 a 4, 0 g %. Contém, ainda, arginina, vernina, araquina (alcalóide), lecitina, sacarina e conglutina. WINTON (1932), cita resultados de análises, de FRAPS (1917), do amendoim descascado (sementes) e respectivas cascas:

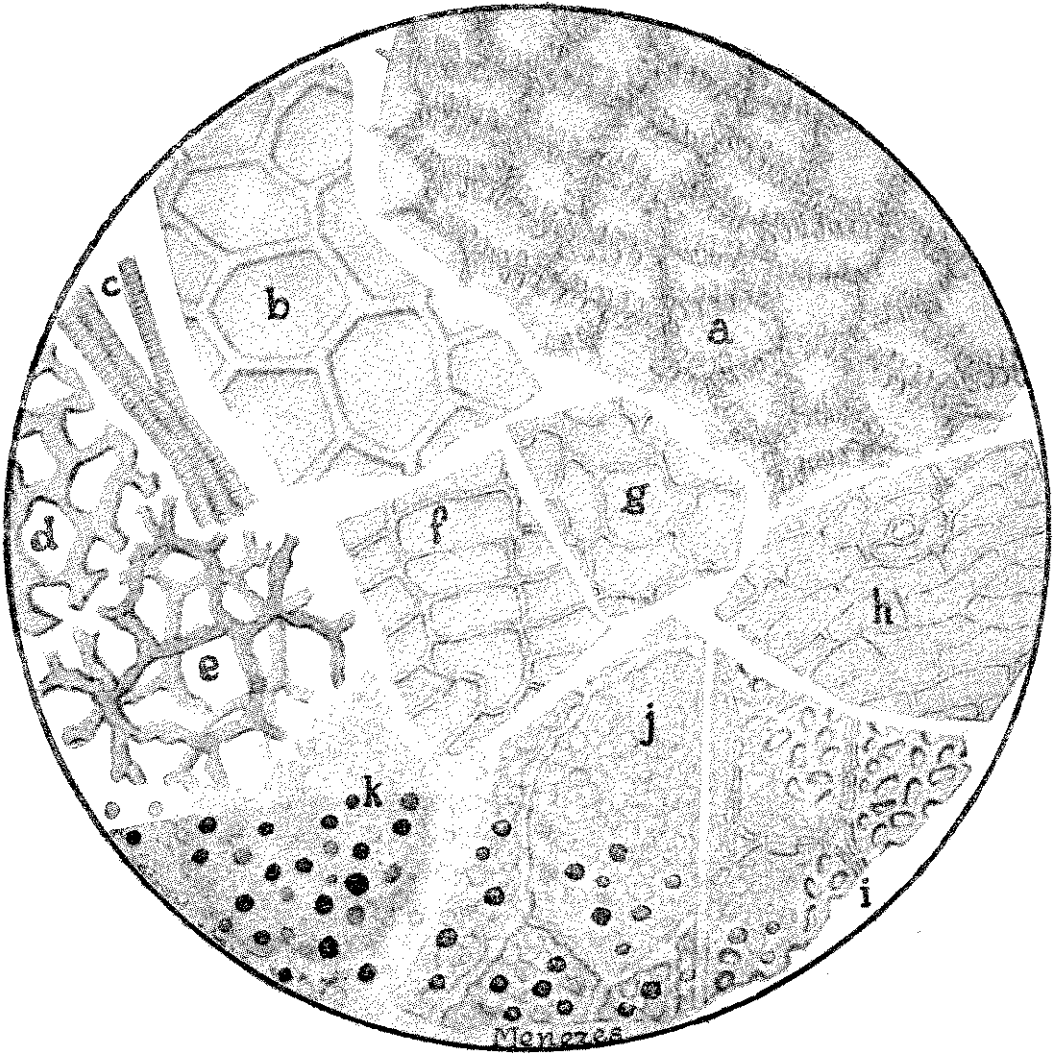


Fig. 5 — Elementos histológicos de amendolm (400 x) - Original.

	Água %	Prótidos %	Lípides %	Ext. s/n %	Fibras %	Cinzas %
Sementes	5,01	32,06	48,73	9,48	2,44	2,28
Cascas	5,65	25,54	36,63	12,07	17,34	2,77

O amendoim contém, aproximadamente, 6% de fécula.

USOS — O amendoim, rico em substância oleosa comestível, é utilizado na produção industrial do óleo, de grande consumo em nosso país; a parte resultante, pasta de amendoim, é entregue ao comércio e às indústrias de produtos alimentícios para ser usada na arte culinária e na preparação de diversos tipos de doces.

As sementes são comestíveis, muito nutritivas, apreciadas na confecção de bolos, biscoitos, bolachas, broas, doces, bombons, chocolates, balas, sorvetes, etc. No Brasil se preparam, com o amendoim, a “paçoca” e o “pé-de-moleque”. A primeira é mistura de amendoim torrado, açúcar, farinha de milho ou de mandioca, socada em pilão; o segundo contém amendoim torrado, inteiro ou moído, melado de rapadura, podendo, ainda, serem adicionadas farinha de milho ou de mandioca.

Como em outros países, o amendoim torrado, em casca, é vendido, ainda quente, em nossas ruas e praças, por vendedores ambulantes. São, também, muito apreciadas, as sementes torradas e recobertas de açúcar ou principalmente salgadas, para serem servidas ao coquetel.

Na fabricação do óleo, devem ser usados amendoins ainda em casca, visto estarem, as sementes livres, sujeitas à deterioração durante o período de armazenamento.

BIBLIOGRAFIA

- COLLIN, E. — 1908 — Précis de Matière Médicale. 2e. ed. Octave Doin, Editeur, Paris, pág. 418.
- FRAPS — 1917 — *Texas Agr. Exp. Sta.*, Bul. 222.
- HAGER — 1942 — Tratado de Farmácia Práctica. Tomo I. Editorial Labor S. A., Barcelona, pág. 885.
- HÉRAL, J. — 1927 — *Traité de Matière Médicale*. 3e. ed. J. B. Bailliére & Fils, Paris, pág. 146.
- WEETESTEIN, R. — 1944 — Tratado de Botânica Sistemática. Versão espanhola da 4.ª ed. alemã. Editorial Labor S. A., Barcelona, pág. 723.
- WINTON, A. L. & K. B. WINTON — 1932 — *The Structure and Composition of Foods*. Vol. I. John Wiley & Sons, Inc., New York, págs. 497, 504.

CACAU

Theobroma cacao L.

Esterculiáceas

Denomina-se cacau a semente do fruto do cacauero, árvore natural da América Central e de regiões setentrionais da América do Sul. É cultivada na maioria de países tropicais, como: México, Brasil, Equador, Peru, Venezuela, e, ainda, em algumas ilhas ocidentais da Índia, nas costas da África setentrional e na Oceânia.

Por suas reais qualidades, o cacau comum (*Theobroma cacao* L.), é a espécie principal e de maior importância comercial. São conhecidas, entretanto, outras espécies, de pouco interesse, existindo, entre elas, algumas selvagens: *T. bicolor* H. B. et K., *T. angustifolium* Sesse, *T. sylvestre* Aubl., *T. guianense* Aubl. e *T. ovalifolium* Sesse.

Seu nome — *Theobroma* — que procede do grego e significa Ambrosia ou Manjar dos Deuses, foi escolhido pelo grande botânico sueco Linneu para batizar o fruto do cacau, considerado outrora como o “fruto favorito dos Deuses”. Tal valor se deu, no passado, às sementes de cacau, que a riqueza de um homem, no dizer de JACOBS (1951), era julgada pelo número de sementes que possuísse, servindo as mesmas, na civilização Azteca, como meio de transações ou de troca de mercadorias.

No Brasil, é a Bahia o maior centro produtor de cacau.

Segundo DEUSDEDIT ALVES (1942), a cultura do cacau em nosso país representa, mais ou menos, 1/5 da produção mundial, colocando-se, em segundo lugar, enquanto o Equador mantém-se na liderança com 2/5 da mesma.

São os maiores importadores do cacau brasileiro, a Inglaterra e os Estados Unidos.

MORFOLOGIA DO FRUTO — O fruto do cacauero, conforme o grau de maturação é amarelo, alaranjado, escarlate ou pardo, mede de 12 a 20 cm de comprimento por 5 a 12 cm de largura e tem, aproximadamente, a forma de mamão, cidra ou melão, com dez costelas ou saliências longitudinais proeminentes, partindo da base ao ápice. Possui de 25 a 75 sementes, dispostas em 5 fileiras e implantadas na porção carnosa, delicada, mucilaginosa e avermelhada do fruto.

MORFOLOGIA DA SEMENTE DE CACAU — A semente, irregularmente ovóide ou elipsóide, achatada e truncada na extre-

midade inferior, tem 15 a 30 mm de comprimento, 14 a 16 mm de largura e 4 a 8 mm de espessura. É revestida por uma casca (espermoderma) de contextura delgada, frágil e quebradiça, superfície lisa ou ligeiramente nodosa por efeito da aderência de restos da polpa, e apresenta côr pardo-avermelhada. Recobrimdo o embrião e aderente aos cotilédones, há fina membrana pardacenta e friável, correspondente ao endosperma, e conhecida, também, pelo nome de *película prateada*. Esta penetra intimamente os dois grandes cotilédones, duros, de côr violeta-pardacenta ou pardo-avermelhada, escura, dividindo-os em vários lobos ou pequenas pregas poligonais que, ao se quebrar a semente com leve compressão entre os dedos, transformam-se em numerosos fragmentos de contornos irregulares.

Os cotilédones possuem aroma pouco pronunciado e sabor amargo, quando frescas e recentemente colhidas as sementes. Só adquirem sabor e aroma, típicos e agradáveis, quando as sementes são submetidas a tratamentos especiais de secagem e de fermentação.

PROCESSO DE SECAGEM — As sementes, depois de desembaraçadas da polpa que as envolve, são submetidas à secagem ao sol, em estufas ou em recintos aquecidos artificialmente. Este processo, aliás, de uso restrito últimamente, tem grande influência sobre a qualidade do produto que se torna sensivelmente adstringente e amargo.

PROCESSO DE FERMENTAÇÃO — Esta operação se fazia, outrora, enterrando as sementes em fossas abertas no solo, onde permaneciam por 7 dias, no máximo, sendo, em seguida, dessecadas pelos métodos comuns. Segundo HAGER (1942), há quem as deixe ao sol, durante o dia, e as junte em montes, durante a noite, recobertas por folhagem, ou as encerre, ainda frescas, em caixas de cimento, de madeira ou em tonéis, que permanecem enterrados por vários dias, para provocar a fermentação. A secagem das sementes, neste caso, será feita em 6 ou 8 horas.

ESTRUTURA MICROSCÓPICA — *Embrião* — a) *epiderme dos cotilédones* ou *membrana prateada* — constituída por células isodiamétricas ou ligeiramente poligonais, de paredes pouco espessas, contendo grãos de aleurona; b) *corpúsculos de Mitscherlich* ou pêlos multicelulares, curtos, grosseiros, claviformes, de côr pardacenta e apresentando granulações; são característicos e encontram-se, em pequeno número, implantados à superfície da epiderme dos cotilédones; c) *epiderme da radícula*, de tecido semelhante ao

da epiderme dos cotilédones, porém, exibindo células menores e apresentando maior número de pêlos. *Cotilédones* — d) células pequenas, poligonais, de paredes finas e nodosas, repletas de substância gordurosa, grãos de amido e de proteína, pertencentes ao parênquima cotiledonar; e) fragmento do mesmo parênquima mostrando as células pigmentadas, isoladas ou em grupos, dispostas irregularmente pelo tecido e que exibem uma côr pardo-avermelhada, sensível à ação de vários reativos; f) *elementos do pó de cacau desengordurado* — grãos de amido, pequenos (de 5 a 12 μ), de forma arredondada, de dedal, de sino, etc., isolados ou agrupados em 2,3 ou 4 elementos, hilo pontoado ou alongado, formando cavidades; fragmentos do cotilédone, dos corpúsculos de Mitscherlich, células pigmentadas, partículas de substância protéica e gordurosa.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA — WINTON, SILVERMAN & BAILEY (1902), dão o seguinte resultado para o cacau torrado descorticado, procedente da Bahia: água, 2,77 g %; prótidos, 11,19 g %; amido, 11,59 g %; substâncias não nitrogenadas, 20,12 g %; lípides, 51,39 g %; celulose, 2,23 g %; cinzas totais, 2,76 g %; teobromina, 1,16 g %; cafeína, 0,18 g %. LEPRINCE (1930), dá para glicídeos, em amido, o total de 15,23 g %, e VILLAVECCHIA (1949), em amido e açúcares, encontra 12,00 g %, fazendo referências a substâncias tânicas, com 6,00 g %, e vermelho de cacau, com 4,00 g %.

USOS — As sementes de cacau não constituem, sós, substância alimentícia, pròpriamente dita, mas são utilizadas, depois da convenientemente torradas, para a confecção de vários produtos de grande consumo e de importância industrial.

PELLERIN (1910), assim os descreve:

1) *Cacau puro em pó* — produto da pulverização das sementes de cacau, livres da casca, com ou sem germe e privadas de parte da gordura ou de manteiga.

2) *Pasta de cacau* — massa obtida do cacau em pó, a quente, em fôrmas especiais, sem nenhuma adição de substâncias estranhas, e contendo tôda a matéria graxa do fruto.

3) *Cacau desengordurado* — pasta de cacau, da qual se extrairam, por expressão a quente, 20 a 30% da gordura.

4) *Cacau solúvel* — obtido pelo tratamento prévio das sementes por carbonatos alcalinos ou pelo amoníaco, destinados a emulsionar o produto. O termo “cacau solúvel” é impróprio, por-

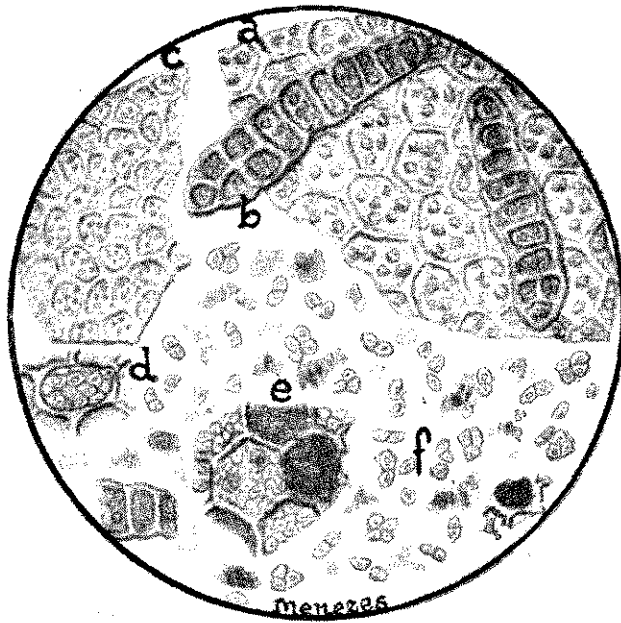


Fig. 6 — Elementos histológicos de cacau (400 x) — Original

quanto aquêlê tratamento não o solubiliza, sim, favorece-lhe a desagregação e melhor incorporação nos líquidos (água, leite, etc.), em que, usualmente, está presente.

5) *Manteiga de cacau* — matéria graxa extraída das sementes de cacau, descorticadas e espremidas entre chapas quentes.

Êstes cinco produtos são utilizados na preparação de doces, de bolos e na industrialização de numerosos produtos alimentícios e farmacêuticos, como: chocolates em pó, em pasta, em lâminas e tabletes; chocolates “fantasia” (frutas, amêndoas, leite, mel, etc.); chocolate dietético; chocolate ferculado; bombons de chocolate; farinhas e produtos alimentícios à base de chocolate; balas, confeitos, etc. Entram na confecção de produtos farmacêuticos como: dragéias, pós, xaropes, extratos fluidos e servem, em muitos outros, como corretivos do sabor ou como excipientes.

O cacau é consumido, sobretudo, sob a forma de chocolate, alimento reparador e tônico das funções digestivas e do sistema nervoso, sendo apreciado pelas suas qualidades, pelo sabor e aroma agradáveis. Seu princípio ativo é a teobromina (dimetilxantina), alcalóide afim da caféina, indicada como diurético nas hidropisias e nas escleroses cardíacas e renais, HÉRAIL (1927).

A casca do cacau tem sido utilizada na fraude do café e do próprio cacau em pó.

BIBLIOGRAFIA

DEUSDEDIT ALVES, O. — 1942 — Lições de merceologia. Tip. Rossolillo, São Paulo, pág. 148.

HAGER — 1942 — Tratado de Farmácia Práctica. Vol. I. Editorial Labor S. A., Barcelona, pág. 887.

HÉRAIL, J. — 1927 — Traité de Matière Médicale. 3e. ed. Librairie J. B. Bailliére et Fils, Paris, págs. 146, 669.

JACOBS, M. B. — 1951 — Food and Food Products. Vol. II. Interscience Publishers, Inc., New York, pág. 1640.

LEPRINCE, M. & R. LECOQ — 1930 — Guide Pratique D'Analyses Alimentaires. Vigot Frères, Éditeurs, Paris, pág. 151.

PELLERIN, G. — 1910 — Guide Pratique de l'Expert Chimiste en denrées alimentaires. A. Maloine, Paris, pág. 639.

VILLAVECCHIA, V. — 1949 — Tratado de Química Analítica Aplicada. Versão espanhola. Tomo II. Editorial, Gustavo Gili S. A., Barcelona, pág. 387.

WINTON, SILVEMAN & BAILEY — 1902 — *Connecticut Agr. Exp. Sta. Rep.* págs. 248, 265, 270; 1903 — *Rep.* pág. 123.

CÓCO

Cocos nucifera L.

Palmáceas

Sinonímia: — Côco da Bahia

O côco é a semente do fruto do coqueiro *Cocos nucifera* L., uma das árvores mais importantes de todos os recantos do mundo e cujo *habitat* não está ainda confirmado ser a Ásia ou a Malásia.

De clima tropical, o côco é encontrado em nosso país, na faixa litorânea, principalmente dos estados do nordeste, sobressaindo a Bahia que, de há muitos anos, é o centro produtor, comercial e exportador, por excelência, donde a razão de se lhe emprestar o nome de procedência — côco da Bahia. Vegeta no litoral arenoso onde a maior parte dos vegetais perecem.

WINTON (1932), afirma que, nos trópicos, o côco, por vários séculos, foi um dos produtos de maior interêsse econômico.

O côco é, também, cultivado na Índia, Ceilão, na área sul do Pacífico e, principalmente, nas Ilhas Filipinas, onde a sua cultura atinge grandes proporções, colocando-a na liderança da produção mundial do côco e da copra (côco sêco, em pedaços), utilizada na extração do óleo.

MORFOLOGIA DO FRUTO — O fruto é drupa volumosa, ovóide ou globosa, trigonada, ligeiramente afilada na extremidade inferior, com 20 a 30 cm de comprimento por 20 a 25 cm de largura. A casca (epicarpo), bastante dura, lisa, lustrosa, de côr verde-amarelada ou parda tem a parte mediana (mesocarpo), formada de polpa muito fibrosa, compacta e resistente, com 8 a 12 cm de espessura. Mais internamente encontra-se o endocarpo, que corresponde à casca do côco, na base do qual se encontram três olhos germinativos.

MORFOLOGIA DA SEMENTE — A semente, côco, própria-mente dito, de forma quase esférica, às vêzes, um tanto alongada, com 10 a 15 cm de diâmetro, é revestida de casca muito dura, lenhosa, de côr pardo-escuro e traz, ainda, em sua superfície, vestígios do tecido fibroso do *mesocarpo*. Aderente à parte interna da casca e recobrando a superfície da semente, está o *espermoderma*, película pardacenta, dura e resistente. A semente é constituída pelo *endosperma*, que é a porção branca, de 1 a 1,5 cm de espessura e de textura oleosa, contendo líquido adocicado e de aroma característico, denominado água de côco.

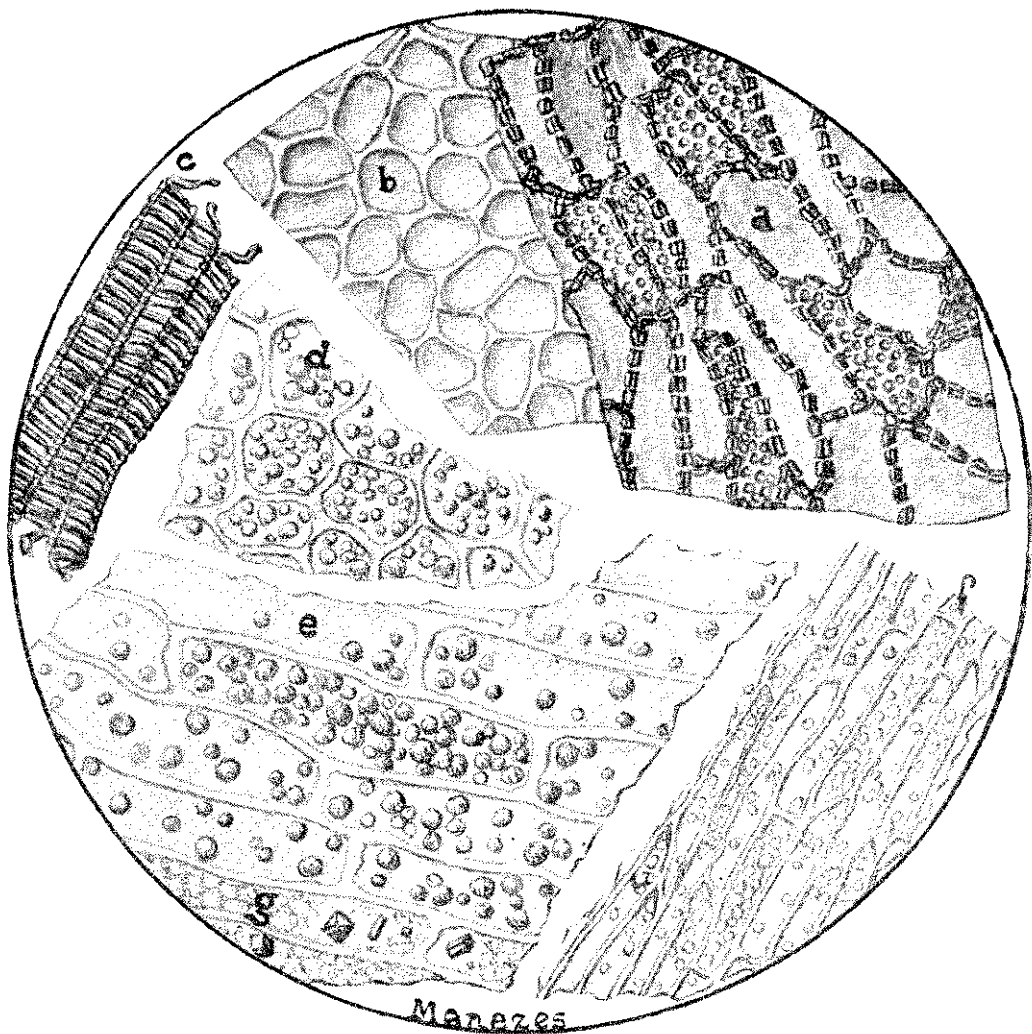


Fig. 7 — Elementos histológicos de Côco da Bahia (de a até e 400x)
(F = 100x) original

ESTRUTURA MICROSCÓPICA — *Espermoderma* — a) constituído por células grandes, alongadas, de paredes grossas, em forma de contas, com perfurações pequenas e arredondadas; b) células de paredes lisas, de forma arredondada, situadas na parte interna do espermoderma; c) feixe de vasos espiralóides espalhados pelos tecidos do espermoderma. *Endosperma* — d) formado, nas suas três primeiras fileiras, de células arredondadas ou isodiamétricas, de paredes grossas, contendo grãos de aleurona e numerosas gotas oleosas de tamanhos diversos; e) células grandes, alongadas e características, semelhantes a fibras lisas, constituindo a maior porção do parênquima fundamental do côco da Bahia; as células do endosperma, como as anteriores, são ricas em aleurona e em matéria graxa (óleo ou gordura — conforme a temperatura); f) o mesmo parênquima observado com aumento de 100 diâmetros, para mostrar a típica semelhança com feixes de fibras celulósicas; g) células do mesmo parênquima (400 x), após tratamento, para observação de cristalóides nos grãos de aleurona.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA — O quadro abaixo refere-se a determinações feitas em produtos de côco, e foi organizado tendo por base dados analíticos de vários autores, citados por WINTON (1932).

	Água %	Prótidos %	Lípides %	Ext. s/n %	Celulose %	Cinzas %
Água de côco, verde ... (Van Slyke)	95,01	0,13	0,12	4,11	0	0,63
Água de côco, maduro . (Van Slyke)	91,23	0,29	0,15	7,27	0	1,06
Côco fresco, sem casca (Kirk, Wood and Gies)	46,31	4,08	37,29	7,90	3,39	1,03
Copra (côco seco, em pedaços) Von Ollech (König)	5,81	4,88	67,00	12,44	4,06	1,81
Côco ralado (Caray)	11,19	20,94	14,13	34,53	13,82	5,39

A proteína do côco é globulina que Ritthausen denominou conglutina. O côco contém, ainda, carboidratos (sacarose, glicose, rafinose, galactose, fructose e dextrina), enzimas (sacarase, oxidase, catalase).

Dá, por expressão, a metade ou mais, de seu pêso de óleo incolor, que é fluido acima de 18° e sólido abaixo desta temperatura, tornando-se, então, branco e opaco. O óleo é extraído do endosperma ou polpa branca do côco, que, depois de sêco ao sol, geralmente na fonte de produção do côco, com o fim de eliminar a maior parte de água nêle contida, toma o nome de copra. Segundo ECKEY (1954), os ácidos graxos contidos no óleo de côco, são os seguintes: saturados — láurico, mirístico, cáprico, caprílico, capríco, palmítico, esteárico e araquídico; não saturados — oléico e hexadecenóico.

USOS — O côco é comestível e constitui um precioso alimento por suas incontestáveis qualidades. Encontra-se em nosso comércio, ao natural, inteiro, em casca, trazendo ainda água, ou ralado, estando ou não adicionado de açúcar.

A sua extensa aplicação é de âmbito internacional na indústria de doces, de produtos alimentícios e na arte culinária, sob a forma de côco ralado, leite de côco, água de côco, banha ou manteiga de côco, sendo considerado um dos mais importantes ingredientes de doces e alimentos, aos quais empresta gôsto particular muito agradável. O óleo de côco entra na composição de gorduras mistas, margarinas e óleos hidrogenados; é utilizado na indústria de sabões finos e de produtos de toucador. Segundo HAGER (1942), o óleo de côco, privado de suas porções mais facilmente fusíveis, e de mistura com outros ingredientes, é empregado na preparação da cacaosina, sucedâneo da manteiga de cacau, cujo ponto de fusão é de 29,5°.

As fibras do mesocarpo do côco são utilizadas na manufatura de esteiras, capachos, escôvas, etc.

BIBLIOGRAFIA

- CARAY — 1921 — *Phil Agr.*, 10: 55.
- ECKEY, E. W. — 1954 — *Vegetable Fats and Oils*. Reinhold Publishing Corporation, New York, pág. 316.
- HAGER — 1942 — *Tratado de Farmácia Práctica*. Tomo I. Editorial Labor S. A., Barcelona, pág. 902.
- KIRKWOOD & GIES — 1902 — *Bul. Torrey Bot. Club*, 29: 321.
- VON OLLEG (KONIG) — 1893 — *Mensch. Nahr-Genussm.*, 2: 495.
- VAN SLYKE — 1891 — *Chem. Centralbl.*, 1: 595.
- WINTON, A. L. & K. B. WINTON — 1932 — *The Structure and Composition of Foods*. Vol. I. John Wiley & Sons, Inc., New York, págs. 373, 382.

CASTANHA DE CAJU

Anacardium occidentale L.

Anacardiáceas

A castanha de caju é o fruto do cajueiro, árvore indígena da América do Sul e da América Central. Segundo ECKEY (1954), THORPE (1919), SCHULTZ (1939), e muitos outros autores, o cajueiro é nativo do Brasil, tendo sido introduzido em outras partes do mundo pelos primeiros exploradores e viajantes portugueses, apreciadores de suas castanhas.

MORFOLOGIA DO FRUTO — A castanha de caju é fruto sêco, aquênio, duro, indeiscente, reniforme ou com formato de feijão, com 3 a 5 cm de comprimento. A superfície (epicarpo) é lisa, amarelo-pardacenta ou verde-acinzentada, sendo a parte mediana (mesocarpo) escura, quase negra, aí se encontrando cavidades onde se aloja um óleo-resina de natureza acre e corrosiva. A parte mais interna (endocarpo) é constituída de camada pouco espessa e de côr amarelo-clara.

MORFOLOGIA DA SEMENTE — A semente alongada, ligeiramente curva, em forma de C, está representada pelo embrião, que é constituído por dois grossos cotilédones, achatados ou planos na face interna, por onde se ajustam. A face externa, de superfície convexa, apresenta pequenos sulcos radiais, lateralmente; de côr branco-creme, passa a amarelo-acastanhada, quando torrada, e, na base, entre os dois cotilédones, traz implantada a radícula, que é curta e afilada.

Recobrando o embrião há duas películas: a mais externa, o *espermoderma*, e a interna, o *endosperma*, ambas de côr parda, destacam-se da semente, depois de torrada.

ESTRUTURA MICROSCÓPICA — a) *Espermoderma* — (tratado por solução de hidrato de cloral, a quente) — constituído por células achatadas, de paredes onduladas, com pigmento pardo, formando várias camadas, entre as quais passam feixes de vasos estreitos da rafe. b) *Endosperma* — formado por uma simples camada de células redondas, contendo grãos de aleurona, os quais são melhor observados em presença do lugol. c) *Cotilédone* — (corte transversal) — está representado por uma epiderme de células pequenas, arredondadas, de paredes grossas; pela subepiderme, de células semelhantes às da epiderme, não apresentando amido nenhuma dessas camadas; pelo parênquima amilífero, dife-

renciado por células retangulares, isodiamétricas ou irregulares, de paredes grossas, contendo numerosos grãos de amido, pequenos, arredondados, elípticos, ou em forma de rim, com hilo pontoadado ou linear, sem estrias, não ultrapassando 12 μ . de diâmetro ou de comprimento. d) *Cavidade de óleo essencial* — encontrada, em grande número, no interior do parênquima amilífero — é revestida por células pequenas, ligeiramente alongadas, dispostas em filas ou paliçadas, não sendo encontrado amido em seu conteúdo. e) Bloco do parênquima amilífero correspondente a uma partícula procedente da castanha torrada e moída, de acôrdo com os processos caseiros ou industrial, para preparação de doces, produtos de confeitaria, bombons, etc.; o parênquima (e), observado de superfície, bem como parte do corte histológico da semente (c), são vistos, no campo microscópico, com e sem a ação do lugol, a fim de serem alcançados detalhes estruturais de maior destaque e melhor verificação do tamanho, da forma e da grande quantidade de amido presente nas células, bem como da proporção de proteína e óleo existente na castanha de caju. f) Gotas oleosas. g) Grão de amido esparsos no campo microscópico.

A presença de amido, no parênquima cotiledonar da semente, orienta e permite a sua diferenciação da castanha do Pará, da amêndoa, da noz e de outras, desprovidas de matéria amilácea quando se encontram manufaturadas em conjunto.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA — Em análises da semente ou amêndoa de caju, SANTOS (1935), encontrou os dados seguintes: água, 5,16%, prótidos, 28,83%, lípides, 47,93%, glicídeos, 14,52%, e cinzas, 3,56%. RIBEIRO (1951), alega que a castanha de caju contém 9,7% de matéria nitrogenada, 5,9% de amido e 47,13% de óleo amarelado, fino, doce, de densidade = 0,916 e idêntico ao óleo de amêndoas doces. Neste óleo, Patel, Sudborough e Watson encontraram 18,2% de ácidos graxos saturados e 81,2% de não saturados (oléico, esteárico, linólico, palmítico e linocérico).

Contém vitaminas B1 e B6 conforme afirma DUTRA DE OLIVEIRA (1953).

A casca da castanha de caju produz líquido cáustico e viscoso, de côr parda e ação vesicante, conhecido como óleo de casca de castanha de caju, de constituição complexa, contendo um composto fenólico chamado cardol, ácido anacárdico, e substância gordurosa.

USOS — A castanha de caju é considerada alimento de grande valor nutritivo, rivalizando com as nozes, amêndoas e avelãs, as

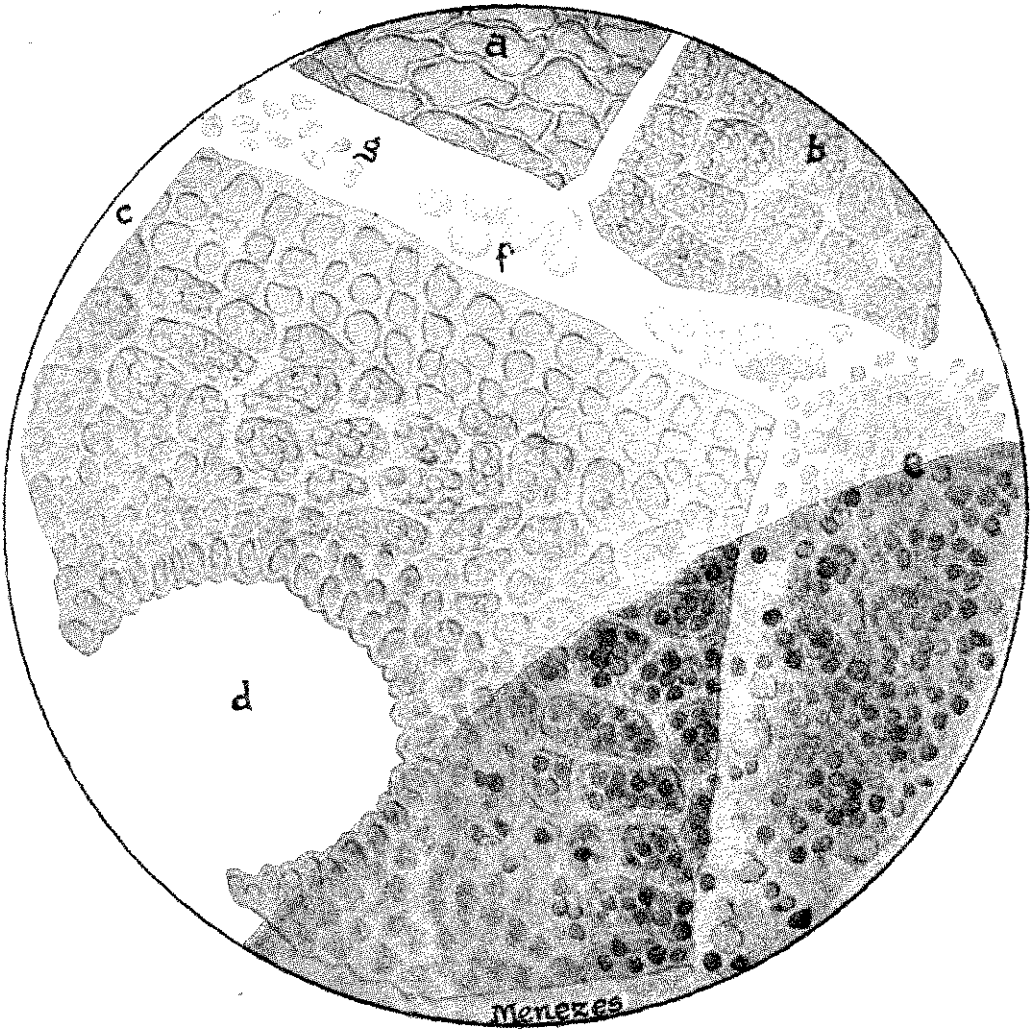


Fig. 8 — Elementos histológicos de castanha de caju (400 x) - Original.

quais pode substituir na confecção de doces caseiros e na indústria de produtos alimentícios, óleo comestível, sorvetes, bombons, balas, etc.

Muito embora as sementes contenham, aproximadamente, 50% de óleo comestível de ótima qualidade, entre nós a sua industrialização não é ainda praticada em escala comercial, como acontece em outros países, visto a produção das mesmas se destinar ao consumo imediato sob a forma de castanhas salgadas. O Ceará se destaca, entre os estados do nordeste, na exportação da castanha de caju, figurando os Estados Unidos como os maiores consumidores.

O óleo da casca da castanha de caju é acre, cáustico e tem várias aplicações na medicina e na indústria e já é produzido, em pequena escala, em nosso país. Segundo WINTON (1932), o sal de amônio do ácido anacárdico é vermífugo e o cardol é vesicatório.

BIBLIOGRAFIA

- DUTRA DE OLIVEIRA — 1953 — O caju e suas virtudes. Rev. Tec. Bebidas, 5: (8): 28.
- ECKEY, E. W. — 1954 — Vegetable and Oils. Reinhold Publishing Corporation, New York, pág. 613.
- RIBEIRO, M. T. A. — 1951 — O cajueiro, sua cultura e importância industrial. Rev. Tec. Bebidas, 3 (10): 30.
- SANTOS, E. — 1935 — O cajú e a cultura do cajueiro. Rev. "O Campo". Rio de Janeiro, março, pág. 25.
- SCHULTZ, A. R. — 1339 — Botânica sistemática. Livraria do Globo, Pôrto Alegre, pág. 378.
- THORPE, E. — 1919 — Enciclopédia de Técnica Industrial. Tomo I, Editorial Labor, Barcelona, pág. 451.
- WINTON, A. L. & K. B. WINTON — 1932 — The Structure and Composition of Foods. Vol. I. John Wiley & Sons, Inc., New York, pág. 545.

CASTANHA DO PARÁ

Bertholletia excelsa Humb. et Bonp. — *B. nobilis* Miers.

Lecitidáceas

Sinonímia: Castanha ou noz do Brasil, Amêndoas da América, do Pará, do Rio Negro e Castaños de Maranhão.

A castanha do Pará é produzida por uma das maiores árvores da floresta amazônica, encontrada ao longo dos rios do norte do Brasil e atingindo, segundo ECKEY (1954), 30 a 40 m de altura. Não só existe em grande quantidade no Brasil, como também, na

Bolívia, Guianas e Venezuela, bem como em outras regiões tropicais, onde foi introduzida, procedente do Brasil, seu país de origem.

Desprovidas de cascas, as castanhas não se conservam por muito tempo, devido ao óleo, facilmente rancificável, porém, quando alteradas, servem, ainda, para a extração desse óleo, aplicado na fabricação de sabões. No Pará, o óleo é extraído em pequena escala, sendo a maior parte das castanhas destinada à exportação e ao comércio, para consumo, ao natural e preparação de doces diversos.

MORFOLOGIA DO FRUTO — O fruto, pixídio sêco, grande, lenhoso, arredondado, deiscente com um opérculo no ápice, contém, ordinariamente, vinte a vinte e quatro sementes ou castanhas.

MORFOLOGIA DA CASTANHA DO PARÁ — A castanha, em seção transversal, tem a forma triangular, mede de 3 a 6 cm de comprimento por 3 a 4 cm de largura, possui casca muito dura, rugosa externamente, com pequenas estrias transversais, côr pardo-acinzentada e lisa na parte interna.

A semente ou amêndoa, obovóide, irregular ou alongada, ligeiramente curva e achatada em alguns pontos da superfície, é constituída por embrião carnudo, firme, indivisível e de contextura oleosa, branco ou creme, revestido por película ou espermoderma de côr parda. Segundo JAMIESON (1943), a castanha do Pará contém, aproximadamente, 51% de cascas e 49% de amêndoa, sendo que esta encerra 65 a 70% de óleo.

ESTRUTURA MICROSCÓPICA — *Espermoderma* — a) restos de tecidos da segunda camada do espermoderma, que permanecem aderentes à superfície da semente — constituídos de células pardas, arredondadas, de paredes grossas e irregulares; b) *película transparente*, de côr amarela, ligada à camada anterior, não apresentando detalhes estruturais perceptíveis. *Endosperma* — c) formado de células isodiamétricas contendo pequenos grãos de aleurona. *Radícula* — d) *parênquima cortical* — constituído de células arredondadas com espaços intercelulares; e) *pró-câmbio* — zona de células poligonais pequenas; f) *medula* — apresentando grandes células poligonais ou isodiamétricas, de paredes grossas.

Todos os três tecidos pertencentes à radícula possuem células ricas em aleurona e gotas oleosas, sendo considerável o número de globóides e de cristalóides, observados depois de prévio tratamento e encontrados, principalmente, na região medular.



Fig. 9 — Elementos histológicos de Castanha do Pará (400x) original

COMPOSIÇÃO QUÍMICA — Os dados analíticos fornecidos por JACOBS (1951), para a semente desprovida da casca são os seguintes: água, 5,3%; prótidos, 14,4%; lípides, 65,9%; carboidratos, 11,0%; açúcares, 1,5%; cinzas, 3,4%; e fibras 2,1%. Contém uma globulina, denominada excelsina por OSBORNE (1892), e cristalizada do extrato da castanha por MASCHKE (1858). O peso específico do óleo a 15° C é de 0,9170 a 0,9180 e os ácidos graxos, conforme estatui JAMIESON (1943), estão presentes na seguinte proporção: saturados 20,29% e não saturados, 73% (oléico, linoléico, esteárico, palmítico e mirístico).

USOS — A castanha do Pará encerra em 2/3 do peso óleo amarelado, fino, de aroma e sabor agradáveis, que lembram a própria castanha e que é extraído para ser usado como óleo comestível e como matéria prima de diversos produtos industriais.

As castanhas são exportadas em grande escala e representam significativo valor econômico na balança orçamentária do país.

São muito apreciadas na confecção de doces caseiros e utilizadas, extensamente, na indústria de produtos alimentícios — bombons, balas, biscoitos, bolos, chocolates, torrones, sorvetes, etc.

BIBLIOGRAFIA

ECKEY, E. W. — 1954 — Vegetable Fats and Oils. Reinhold Publishing Corporation, New York, pág. 703.

JACOBS, M. B. — 1951 — Food and Food Products. Vol. II. 2.^a ed. Interscience Publishers, Inc., New York, pág. 1556.

JAMIESON, G. S. — 1943 — Vegetable Fats and Oils. 2.^a ed. Reinhold Publishing Corporation, New York, pág. 174.

MASCHKE, — 1858 — *J. prakt. Chem.*, 74: 436; 1859 — *Bot. Z.*, 17: 409, 417, 429, 437.

OSBORNE — 1892 — *Am. Chem. J.*, 14: 662.

GERGELIM

Sesamum indicum D. C. — *S. orientale* L.

Pedaliáceas

Sinonímia: Jongeli, Sim-Sim (Arábia), Sirgilim, Gingili, Til, Sum-Sum (Índia), Ellu, Widjin (Malásia), Naku (Birmânia), Benjam (Sumatra), Sem-Sem (Egito), Teel, Ajonjoli, Gingilim e Gergilim adotados em diversos países.

Das sementes oleaginosas comestíveis, cultivadas em toda a Terra, o gergelim é, provavelmente, a mais antiga. Entretanto, o seu local de origem, até hoje, não é conhecido, muito embora alguns autores acreditem ser a Índia.

Os principais países produtores e exportadores das sementes e do óleo de gergelim são os seguintes: China, Índia; norte, este e oeste da África e da Síria; e, em menor escala: Japão, Java, Sião, Alemanha, França, Turquia, Grécia, Itália, México, Venezuela e muitos outros países de clima quente do globo.

Não obstante a reconhecida importância do gergelim, sua cultura não despertou ainda, em nossos agricultores, a devida atenção dispensada às demais sementes oleaginosas de interesse econômico para o Brasil. Conforme esclarece CANECCHIO FILHO (1959), atualmente esta oleaginosa está sendo cultivada, em pequena escala, no Estado de São Paulo, na zona de Ribeirão Preto, nos intervalos da cultura do arroz.

Experimentações feitas em várias localidades, chegaram a resultados promissores, por intermédio do Instituto Agrônomico de Campinas, com variedades procedentes da Venezuela — país que se destaca como grande produtor na América do Sul.

Comercialmente, as sementes principais são brancas e pretas, havendo, todavia, vermelhas e pardas, de menor interesse econômico, bem como “matizadas”, produto de qualidade inferior constituído pela mistura de tôdas elas.

MORFOLOGIA DO FRUTO — O fruto é cápsula alongada, deiscente, contendo numerosas sementes aderentes à placenta central.

MORFOLOGIA DAS SEMENTES — Pequenas, ovóides ou piriformes, achatadas ou planas, lisas, de côres variadas (branca, amarela, vermelha, parda e preta), com 1,5 a 3 mm de comprimento, 1,5 a 2 mm de largura e 1 mm de espessura. Na parte central de um dos lados da semente atravessa um cordão, no sentido longitudinal, localizando a rafe, que, saindo da parte afilada da semente, onde se implanta o hilo, vai até a extremidade oposta e alargada da mesma em que se encontra a calaza. Próximo do bordo de cada lado da semente estão presentes outros filêtes ou rugosidades. Em corte transversal, a semente se constitui das seguintes partes: envoltório ou espermoderma; camada mediana ou endosperma; e porção central ocupada pelos cotilédones, brancos e de textura oleosa. A semente tem sabor adocicado e oleoso e não possui aroma.

ESTRUTURA MICROSCÓPICA — *Espermoderma* — a) *Epiderme superior* (exame de superfície) — formada por células poligonais, de paredes finas, apresentando, cada uma, um pequeno bloco arredondado, constituído por cristais irregulares de oxalato

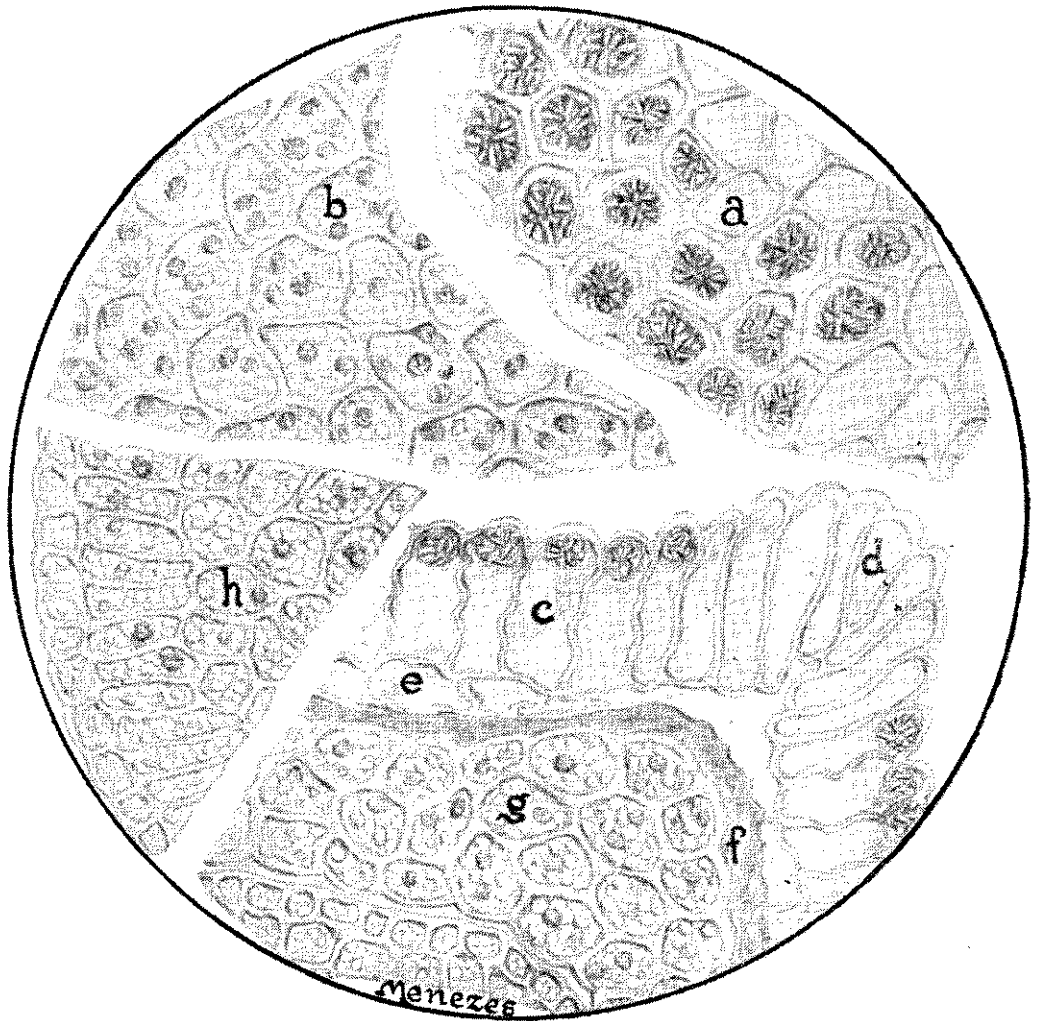


Fig. 10 — Elementos histológicos de gergelim (400x) original

de cálcio. b) *Endosperma* (exame de superfície) — células isodiamétricas de paredes grossas, contendo gotas oleosas e grãos de aleurona, com até 6 μ de diâmetro.

Corte transversal da semente — Espermoderma — c) *epiderme superior* — mostra uma única fileira de células onduladas, estreitas e alongadas radialmente, dispostas em paliçada, ou como barbas de pluma, contendo cada uma, pequena drusa de 20 a 40 μ de diâmetro, constituída por diminutos cristais irregulares de oxalato de cálcio, que não são observados nas células (d) pertencentes às saliências ou aduelas, cujas paredes são mais grossas na extremidade que dá para o exterior; e) *camada parenquimatosa* — de células estiradas tangencialmente, achatadas e muito comprimidas, correspondentes à epiderme interna; f) *cutícula* — fina membrana amarela aderente à epiderme interna. g) *Endosperma* — apresenta a mesma estrutura microscópica, tanto em preparações observadas de superfície, como em cortes histológicos. h) Embrião — formado por células isodiamétricas na maior porção dos cotilédones e, na região limitada pela epiderme interna, estas células são alongadas e dispostas em paliçada; as células dos cotilédones são ricas em óleo e aleurona. Os grãos de aleurona atingem até 10 μ de diâmetro, na expressão de WINTON (1932), e, segundo HANAUSEK (1901), cada grão contém um cristalóide e um globóide.

Quando a preparação é feita com o fim de ser observada de superfície, o material deve sofrer prévio tratamento com solução de hipoclorito de sódio ou de hidróxido de sódio, sem o que não terá suficientes detalhes para uma precisa identificação. Nas sementes escuras são encontrados pigmentos nas células epidérmicas.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA — A média dos resultados oferecidos por vários autores é a seguinte: água, 5,50%; prótidos, 20,50%; lípides, 48,00%; extrato, 17,00%; fibras, 5,00%; e cinzas, 4,00%.

A proporção dos componentes oscila, de acôrdo com a procedência e com a variedade das sementes examinadas. Contém duas globulinas isoladas por RITTHAUSEN (1880) e denominadas: globulina e legumina. As sementes pretas contêm porcentagem maior de óleo, porém, as sementes brancas fornecem óleo de muito superior qualidade. São os seguintes, os dados fornecidos por HILDITCH & RILEY (1945), quanto aos ácidos graxos presentes no óleo de gergelim: mirístico, 1%; palmítico, 8,1%; esteárico, 3,5%; araquídico, 1,1%; hexadecenóico, 0,5%; oléico, 44,6%; linoléico, 40,5%; insaponificável, 1,6%.

Várias reações são utilizadas para a verificação da presença do óleo de gergelim no óleo de oliva (reações de Baudouin, modificada por Villavecchia e Fabris; de Ballier, de Tochas, Kreis, Soltzien, etc.).

USOS — A maior aplicação do gergelim está, sem dúvida, na extração do óleo que, pelas suas ótimas qualidades, substitui o óleo de oliva, principalmente nos países orientais. Dá, por métodos diferentes, três tipos de óleo, para aplicações diversas.

A semente, geralmente inteira, é utilizada na confecção de doces, bolos e biscoitos diversos, muito apreciados em nosso meio e aqui introduzidos por sírios e japoneses. Os óleos inferiores são utilizados na indústria de sabões, principalmente do tipo "marselha".

É empregado em preparações farmacêuticas, considerado laxativo na dose de 40 a 60 g e foi usado no tratamento da tuberculose, segundo afirma NELSON (1951). O óleo de primeira é muito apreciado em saladas, frituras e aplicado na indústria de margarina, gorduras compostas, óleos hidrogenados, etc.

BIBLIOGRAFIA

- CANECHIO FILHO, V. — 1959 — Valor do gergelim. *Supl. Agr. do Jornal "Estado de S. Paulo"*, 5 (217): 12.
- HANAUSEK — 1901 — Lehrbruch tech. Mikroskopie. Stuttgart, pág. 379: 1907 — *Microscopy Technical Products*. New York, pág. 332.
- HILDITCH & RILEY — 1945 — *J. Soc. Chem. Ind.*, 64: 206.
- NELSON, A. — 1951 — *Medical Botany*. E. & S. Livingstone, Ltd. Edinburgh, Great Britain, pág. 239.
- RITTHAUSEN — 1880 — *Pflüger's Arch.* 21: 81; 1881 — *J. prakt. Chem.* 23: 481; 1896 — *Landw. Vers. — Stat.* 47: 391.
- WINTON, A. L. & K. B. WINTON — 1932 — *The Structure and Composition of Foods*. Vol. I. John Wiley & Sons, Inc., New York, pág. 600.

GIRASSOL

Helianthus annuus L.

Compostas

O girassol é originário do México, porém sua cultura é feita em muitos países de clima temperado, pelo excelente óleo contido nas sementes. A planta é, também, ornamental, sendo, comumente, cultivada em jardins, pela originalidade de suas flores. Em muitos países da Europa e da Ásia, o girassol é, reconhecidamente, oleaginoso de alto valor econômico e industrial. De há muito, a Rússia vem se colocando em primeiro lugar na produção mundial do giras-

sol. Seguem-lhe, pela ordem de importância, a Hungria, a Bulgária, a Romênia, o Egito, a África do Sul, a Argentina e o Uruguai.

As numerosas variedades cultivadas compreendem plantas de pequeno, médio e grande porte.

O óleo de girassol, comestível e de qualidades comparáveis ao de oliva ou ao de amendoim, é extraído das sementes.

Apesar de seu real valor, diz TELLA (1959), a cultura do girassol, entre nós, ainda não foi incluída entre as oleaginosas de interesse econômico, muito embora lhe sejam favoráveis o clima e o solo de nosso país. Poucas culturas se encontram nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Pernambuco, destinando-se as sementes, quase que exclusivamente à alimentação de aves.

Várias campanhas de ordem oficial foram realizadas, visando a incentivar a cultura do girassol, porém, resultaram infrutíferas pela falta de interesse por parte de nossos agricultores, industriais e criadores.

MORFOLOGIA DO FRUTO E DA SEMENTE — O fruto, aquênio obovoide, subanguloso, indeiscente, de pericarpo lenhoso, fino e duro, de cor branca, preta, parda, cinzenta, estriada ou com faixas brancas e pretas, brancas e cinzentas, etc., segundo a variedade, mede, em média, 1,8 cm de comprimento.

A semente, amêndoa oleaginosa, de forma ligeiramente elipsóide, achatada nas duas superfícies, afilada no ápice, constitui-se por um embrião com cotilédones maciços. Recobre-se por duas finas películas brancas e sedosas: espermoderma, externa, e endosperma, diretamente ligada aos dois cotilédones, muito pouco desenvolvida e reduzida a uma simples camada de células.

ESTRUTURA MICROSCÓPICA — *Pericarpo* — a) *Epicarpo* — formado por células alongadas no sentido longitudinal, de paredes nodosas, pigmentadas, nas sementes coloridas, e por faixas de células alternadamente incolores e pigmentadas nas sementes rajadas; são vistos pêlos ou tricomas duplos ou gêmeos, curtos, unicelulares, de luz mais larga do que as paredes e tricomas longos, pluricelulares, caracteristicamente nodosos, de paredes finas e base alargada; b) *hipoderma* — de células porosas, mais ou menos quadrangulares e de poros muito estreitos; c) *camada fibrosa* — constituída por uma série de fibras longas, de paredes grossas, fortemente rajadas; d) feixes fibro-vasculares do parênquima, de

células irregulares e comprimidas, da porção mais interna do pericarpo, que seria correspondente ao endocarpo. *Espermoderma* — e) *epiderme superior* — de células elipsóides, originais, de paredes muito finas, sinuosas, e, às vezes, em zig-zague; f) *parênquima esponjoso* — de células delicadas, de paredes finas, com espaços intercelulares grandes, arredondados ou irregulares; g) *epiderme interna* — de células poligonais, paredes finas; h) *endosperma* — de células retangulares, paredes finas, com pequenos grãos de aleurona e núcleo bem visível. *Embrião* — i) *cotilédones* — constituídos por células isodiamétricas grandes, apresentando numerosas gotas oleosas e grãos de aleurona com até 14 μ de diâmetro; as células da região interna e plana dos cotilédones são alongadas e em paliçada.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA — Dados de THORPE (1922), baseados na média das análises realizadas por WILEY (1901), sobre o girassol cultivado na América:

	Água	Próteínas	Lípides	Ext. s/n	Celulose	Cinzas
Sementes inteiras	4,4%	15,0%	27,1%	20,9%	29,2%	3,4%
Cascas	6,2%	3,0%	1,7%	23,2%	63,8%	2,2%
Amêndoas	4,9%	26,9%	45,2%	16,1%	2,7%	4,3%

Contém edestina, uma globulina, que, segundo OSBORNE & CAMPBELL (1897), se encontra em outras sementes, porém associada ao ácido heliantotânico.

Ácidos graxos, presentes no óleo, de acordo com JAMIESON & BAUGHMAN (1922), sementes produzidas no Missouri, Estados Unidos: insaponificáveis, 1,2%; ácidos graxos, saturados, 7,1%; insaturados, 86,5%; ácidos como glicéridas: oléico, 33,4%; linoléico, 57,5%, palmítico, 3,5%, esteárico, 2,9%, araquídico, 0,6%; e lignocérico, 0,4%. Contém carboidratos (sacarose, pentosanas), nucleína, lecitina, enzimas (lipases), e sais minerais.

USOS — A principal aplicação do girassol consiste na extração do óleo, que é comestível e aproveitado para vários fins culinários. O óleo, obtido por expressão a frio, é amarelo-pálido, de sabor agradável e aroma suave. O de extração a quente é de cor mais acentuada, possui odor particular e contém mucilagens, necessitando prévia purificação para ser utilizado nas artes e na indústria. Sendo um excelente óleo secativo, tem emprego na fabricação de tintas e de vernizes, e, em saboaria, serve para dar brilho, fineza

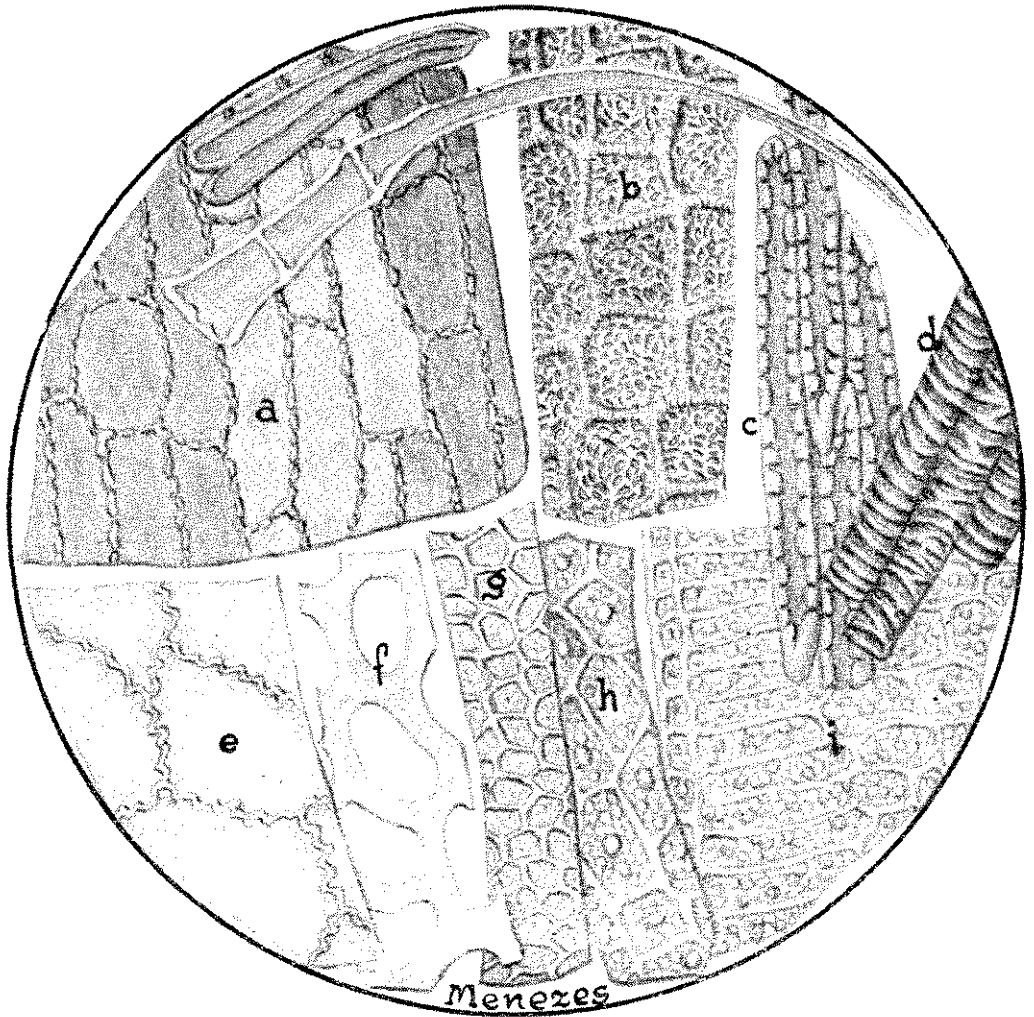


Fig. 11 — *Elementos histológicos de girassol (400x) original*

e flexibilidade ao sabão duro. É empregado na industrialização de margarina, de gorduras compostas e de sucedâneos da manteiga.

Na Rússia e em outros países onde se cultiva intensamente esta oleaginosa, as sementes torradas servem não só na alimentação humana, principalmente durante o inverno, como na confecção do pão misto, de bolos, etc.

As sementes são largamente utilizadas em avicultura, como alimento de papagaios e periquitos.

Possui ação farmacodinâmica, citada em vários compêndios. U. S. Dispensatory, por exemplo, indica as sementes do girassol no tratamento da malária, e, também, no das bronquites, associado a drogas balsâmicas.

As flores constituem importante fator para elaboração do mel de abelhas, melhorando-lhe a qualidade, e, LE CLERC (1930), recomenda-as como febrífugo.

As tortas, resultantes da extração do óleo, constituem excelente alimento para ser incluído nas rações do gado; podem, também, ter emprêgo na engorda de suínos, pelo teor elevado de proteínas que contêm, e, ainda, servem como adubo.

BIBLIOGRAFIA

- JAMIESON & BAUGHMAN — 1922 — *J. Am. Chem. Soc.*, 44: 2952.
 LE CLERC — 1930 — Action fébrifuge de l'Hélianthe ou Grand Soleil (*Helianthus annuus* L.). *Presse Méd.* 38: 948.
 OSBORNE & CAMPBELL — 1897 — *J. Amer. Chem. Soc.*, 19: 487.
 OSOL, A. — 1955 — The Dispensatory of the United States of America. 25. Ed. J. B. Lippincott Company, New York, pág. 1711.
 TELLA, R. — 1959 — O girassol. *Supl. Agr. do Jornal "Estado de São Paulo"*, 5 (218): 15.
 THORPE, E. — 1922 — Enciclopedia de Química Industrial. Vol. IV. Editorial Labor S. A., Barcelona, pág. 7.
 WILEY — 1901 — U.S. Dept. of Agric. Div. of Chem., Bul. 60.

PARTE TÉCNICA

As sementes oleaginosas comestíveis são utilizadas na confecção de elevado número de produtos de composição variadíssima, tais como: doces, bolos, biscoitos, chocolates, bombons, balas, confeitos, sorvetes, etc. Nestas condições, cada um destes produtos, reclama técnica especial para separação de seus componentes, a fim de possibilitar preparações de lâminas, com as quais se possa chegar à identificação microscópica.

Pode-se, de modo geral, dividir em duas partes a técnica para a preparação do material destinado à microscopia:

I — ENSAIOS PRELIMINARES

II — TÉCNICA ESPECIAL

I — ENSAIOS PRELIMINARES — Imprescindíveis para conhecimento da amostra a ser examinada, na orientação e na escolha da técnica a ser empregada pelo analista, baseiam-se nas seguintes provas:

<i>CARACTERES ORGANOLEPTICOS</i>	Aspecto	{ Açucarado, cristalizado, gorduroso, mole, semi-duro, duro, friável, fragmentado, pulverizado, líquido. Parasitado, mofado, etc.
		Côr Cheiro Sabor
<i>EXAME A LUPA</i>		{ Detalhes externos e internos do material. Separação das partículas heterogêneas da mistura e de substâncias estranhas. Confirmação de produto alterado, parasitado, contaminado por microrganismos (bolores, leveduras e bactérias).
		<i>PREPARAÇÃO DE LÂMINA PARA EXAME DIRETO AO MICROSCÓPIO</i>

II — TÉCNICA ESPECIAL — O tratamento a ser aplicado ao material dependerá da orientação obtida pelo exame direto do material, utilizando-se, para êste fim, de processos físicos e químicos e de tratamento complementar.

<i>PROCESSOS FÍSICOS</i>	<i>Sólido</i> <i>Semi-sólido</i>	{ Cortar em pequenos pedaços, raspar, triturar ou reduzir a fragmentos, sem prejuízo das partículas de sedimentos na mistura.
		<i>Líquido</i>
<i>PROCESSOS QUÍMICOS</i>	<i>Gorduroso</i>	{ Desidratar pelo álcool retificado ou absoluto.
		{ Desengordurar pelo éter, clorofórmio, sulfeto de carbono, benzol, éter de petróleo, toluol, acetona, etc.
	<i>Açucarado</i>	{ Dissolver em água para separar o açúcar, decantar e desengordurar, se necessário.
	<i>Colorido</i>	{ Retirar o corante em dissolução em água, álcool, éter, etc.
	<i>Misto</i>	{ Desidratar, desengordurar, lavar em água, separando as diversas camadas em tubos de ensaio 20 x 20 ou em cálices cônicos, para o devido tratamento.

O material será passado para placa de Petri e submetido ao tratamento seguinte:

<i>Separação dos componentes</i>	{	<i>direta (a seco)</i> . . .	{ quando há, na mistura, fragmentos de aspecto e cores diferentes, possibilitando separá-los por meio de agulha ou estilete.
		<i>em água</i>	{ a dissolução do material em pequena porção de água, proporciona, muitas vezes, maior facilidade na retirada ou "pesca", com agulha de ponta achatada, da partícula ou do fragmento visado.
		<i>à lupa</i>	{ quando as partículas da mistura são diminutas e não podem ser distinguidas à vista desarmada.
<i>Descoramento</i>	{	Sol. soda a 10% . . . Sol. hipoclorito de sódio Sol. hidrato de clo- ral	{ quando as partículas separadas se apresentam fortemente pigmentadas.
<i>Modificação do conteúdo celular e solubilização de substância amilífera presente na mistura</i>	{	Cloro nascente . . .	{ quando há necessidade de separação, em camadas, dos vários tecidos de um parênquima coriáceo e pigmentado.
		Solução de hidróxi- do de sódio ou de potássio	{ retirar gotas oleosas, proteínas, cromatóforos, e, principalmente, o amido presente nas células ou na mistura, por transformação em dextrina.
<i>Cortes histológicos</i>	{		{ obtidos em micrótomos de mão, de parafina, de congelação ou ainda, feitos à mão, por meio de navalha ou simples lâmina de barbear, seguindo-se as técnicas conhecidas.
<i>Preparação de lâminas</i>	{		{ passa-se o material (corte histológico ou partículas) para uma gota d'água colocada sobre lâmina e recobre-se com lamínula.
<i>Reagentes (micro-reações)</i> (aplicando-se uma gota no bordo da lamínula) . . .	{	Lugol	{ proteína (amarelo escuro), amido (azul), dextrina (violeta), gotas oleosas (amarelas).
		Solução de ácido tânico	{ proteínas (precipitado amarelo-pardacento).
		Solução de ácido picrico	{ proteínas (precipitado amarelo)
		Solução de cloreto férico	{ tanino (azul-escuro).
		Alcool Acetato de chumbo etc.	{ gomas, pectinas, mucilagens.

Convenientemente preparada a lâmina será levada ao microscópio para ser observada, de início, com aumento de 100 vezes, a fim de, com rapidez maior, ser localizado o tecido procurado. Em seguida, com grande aumento (400 diâmetros), será estudada a estrutura microscópica do tecido focalizado, cujos detalhes morfológicos típicos irão permitir imediata identificação.

Nestas condições, a técnica para o exame microscópico dos produtos elaborados com sementes oleaginosas, pode ser resumida do seguinte modo:

Doces, confeitos, balas (açucarados) — Cortar ou partir 10 g do material em pequenos pedaços; passar para um copo de 500 ml; juntar água, agitar por várias vezes até dissolver todo o açúcar; deixar em repouso por uma hora; decantar, transferir o sedimento para placa de Petri, e aplicar a Técnica Especial.

Bolos e biscoitos — Em placa de Petri, amassar, com espátula, 10 g do material, juntando água, aos poucos, até formar pasta mole e homogênea; fazer lâmina direta e aplicar a Técnica Especial.

Chocolates — Raspar 10 g do material; retirar cuidadosamente, com bisturi, os fragmentos visíveis de sementes, desidratando e desengordurando-os em cálices ou tubos de ensaios separados, aplicando, em seguida, a Técnica Especial.

Bombons — Se tiverem cobertura de chocolate, usar o tratamento indicado: dissolver, em água, o recheio, se for açucarado ou, nos solventes apropriados, se contiver gordura ou chocolate em pó e aplicar a Técnica Especial.

Sorvetes — Liquefazer o sorvete, homogeneizar por agitação, passar para dois tubos próprios, centrifugar por meia hora, decantar o líquido sobrenadante e nele proceder a micro-reações para revelar as substâncias possivelmente em dissolução (amido, dextrina, gelatina, etc.); fazer lâmina direta do sedimento e, no mesmo tubo, aplicar a Técnica Especial, para facilitar a identificação de todas as substâncias presentes, com o auxílio do microscópio.

RESUMO

Continuando a série de publicações, que vêm sendo feitas com o fim de facilitar o estudo da MICROSCOPIA ALIMENTAR aos que se interessam por este importante ramo da Bromatologia, o Autor apresenta mais este trabalho, tendo em vista a falta, em nosso idioma, de literatura especializada no assunto.

Estando o Instituto Adolfo Lutz empenhado em prosseguir os trabalhos para a publicação do segundo volume dos "MÉTODOS DE ANÁLISES BROMATOLÓGICAS", referente a "Análises Microscópicas", o presente trabalho será, por certo, uma contribuição oportuna no sentido de ser abreviada a sua realização.

O Autor estuda as seguintes sementes oleaginosas comestíveis, consideradas de maior importância e consumo em nosso país: NOZES (européia e americana), AMÊNDOAS (doce e amarga), AVELÃ, AMENDOIM, CACAU, CÔCO, CASTANHA DE CAJU, CASTANHA DO PARÁ, GERGELIM e GIRASSOL.

O Autor cita, logo após a classificação botânica da planta de que procede cada semente, origem, espécies e variedades cultivadas, morfologia e estrutura microscópica, bem como, composição química, produção, comércio e usos, terminando pela PARTE TÉCNICA, que possibilita a preparação de lâminas para identificação ao microscópio.

Acredita o Autor que o presente trabalho seja de grande interesse aos Órgãos Oficiais, no contróle analítico de produtos entregues ao consumo; às indústrias de produtos alimentícios, na verificação da matéria prima a ser empregada; às Faculdades e demais estabelecimentos de ensino, em cujas disciplinas figura a Bromatologia; e aos estudiosos do assunto.

SUMMARY

Continuing the series of papers which are being published in order to facilitate the study of Food Microscopy to those interested in this important branch of Bromatology, the author presents this paper, considering the deficiency of specialized literature on this subject in our country.

The Instituto Adolfo Lutz being at the moment engaged in continuing the studies for the publication of the second volume of the "Métodos de Análises Bromatológicas", concerning the "Microscopic Analysis", this paper will surely be an important contribution to accelerate its realization.

The author studies the following edible seeds, considered of large importance and consumption in our country: walnuts (European and North American), almonds (sweet and bitter), filbert, peanut, cocoa, cocconut, cashew nut, Brazil nut, sesame and sunflower seeds.

The author gives, after the botanical classification of the plant from which comes each seed, its origin, species and cultivated varieties, morphology and microscopical structure, as well as the chemical composition, production, commerce and uses, ending with the technical part, which makes possible the preparation of slides for its microscopical identification.

The author believes that the present paper will be of great interest to the governmental institutions for the analytical control of products distributed for consumption, to the industry of food products for the control of raw material, to the faculties and other schools in which Bromatology is a part of the regular curriculum, and to all others interested in this subject.

INVESTIGAÇÕES LABORATORIAIS SOBRE A ENTERITE INFANTIL POR *E. coli* G. E. I.

AUGUSTO DE E. TAUNAY (*)

HÉLIO MARTINS (**)

JÚLIO TOPOROWSKI (***)

L. A. DE TOLEDO (****)

ETHEL S. PEIXOTO (*****)

A opinião de Czerny e sua Escola de que as diarréias infantis teriam os erros dietéticos como causa principal levou os pediatras das primeiras décadas dêste século a se orientarem nesse sentido por muitos anos. Todavia, as investigações mais recentes de HORMAECHÉ e col. (1936), BRAY (1945), KAUFFMANN (1954) e de muitos outros pesquisadores serviram para demonstrar de maneira clara e irretorquível que a etiologia infecciosa deve ser considerada em primeiro lugar quando nos encontramos face aos processos diarréicos do recém-nascido e do infante.

Ao planejar a presente investigação, tivemos em mira principalmente verificar a participação etiológica dos germes do grupo *coli* na gênese das infecções entéricas agudas da infância, incidentalmente assinalando a eventual ocorrência das enterobactérias dos gêneros *Shigella* e *Salmonella* e isto porque a importância etiopatogênica destas já está sobejamente comprovada.

No tocante ao grupo *coli*, a soma das pesquisas empreendidas nos últimos dez anos em vários países autoriza afirmar a existência de certos tipos de colibacilos (grupo G-E-I. = gastroenterite infantil) certamente patogênicos para crianças e mesmo para adultos (FERGURSON e col., 1952; KOYA e col., 1954), neste caso quando

(*) (**) Médicos do Instituto Adolfo Lutz.

(***) (****) Médicos do Serviço de Pediatria da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

(*****) Técnico de Laboratório do Instituto Adolfo Lutz.

ingeridos em grande número. Assim, a diarréia epidêmica do recém-nascido, que tem sido o terror dos hospitais infantis, em muitos casos só teve sua etiologia esclarecida depois do emprêgo de técnicas apropriadas capazes de identificar aquêles tipos especiais de colibacilos patogênicos. Por outro lado, além de nas fezes de crianças e adultos com distúrbios intestinais, o achado de tais enterobactérias tem sido assinalado com freqüência no ambiente hospitalar [ROGERS (1951)] bem como nos objetos de uso das crianças (Editorial J. A. M. A., 1954), nas mãos e na rinofaringe de enfermeiras, assim demonstrando a facilidade com que se podem infectar as crianças de tenra idade, justamente as mais sensíveis à enterite provocada pelo *coli* G. E. I.

No quadro I estão reproduzidos os tipos mais importantes de *E. coli* G. E. I. até hoje descritos, sua constituição antigênica, a sinonímia, os nomes dos autores que primeiro os assinalaram e o ano correspondente.

QUADRO I

Antígenos			Sinônimos	Autores	Ano
O	K	H			
111	B4	2, 12, 21 ou imóvel	<i>B. coli neapolitanum</i> <i>B. coli tipo A</i> Tipo D 433	Bray Giles e Sangster Taylor e col.	1945 1948 1949
55	B5	2, 6, 7 ou imóvel	<i>B. coli tipo B</i>	Giles e col.	1949
26	B6	11 ou imóvel	<i>E. coli</i> 0 26	Orskov	1951
112a, 112c	B11		<i>Sh. guanabara</i>	Assis	1948
86	B7	8, 9, 10, 11	Tipo E 990	Charter e Taylor	1952
125	B15	19	Canioni Vincent	Charter e Taylor	1952
126	B16	2	E. 611	Charter e Taylor	1952
127	B8		<i>E. coli</i> 0 127 B8	Ewing e col.	1955

De todos os tipos de *E. coli* acima catalogados, apenas os pertencentes aos grupos somáticos 111, 55, 26 e 86 têm sido assinalados pela generalidade dos pesquisadores em países diferentes [Clement e col. (1953); Buttiaux e col. (1951); Le Minor e col. (1954); Spillmann e col. (1954); Shanks (1952); Modica e col. (1952); Graber e col. (1954); Wright e col. (1953); Gronroos

(1954 e 1957); Belnap (1956)], de tal modo que os podemos considerar como os mais importantes do ponto de vista da freqüência.

Também em nosso meio, TAUNAY e col. (1956) relataram o achado desses germes, com freqüência bastante alta, em casos de enterites agudas de recém-nascidos internados em hospital, motivo por que julgamos de grande interêsse empreender a presente investigação no sentido de verificar sua incidência no ambiente hospitalar e extra-hospitalar.

A par da verificação que realizamos sôbre a incidência de colibacilos patogênicos, damos conta de uma série de investigações visando a comparar técnicas de colheita de material para coproculturas e métodos bacteriológicos diversos.

Fizemos também provas de sensibilidade "in vitro" dos referidos germes a antibióticos, verificamos a presença de anticorpos específicos no sôro, pesquisamos portadores de germes (homens) e realizamos tentativas de infecção experimental em cobaios e camundongos.

I — TÉCNICAS DE COLHEITA DAS FEZES PARA COPROCULTURA

Até hoje não existe acôrdo perfeito sôbre se há ou não vantagem em examinar fezes passadas naturalmente ou colhidas diretamente na ampola retal (o chamado método do "swab" retal). Entre os pesquisadores nacionais, são partidários do segundo processo ASSIS (1935), TAUNAY (1951) e MAROJA (1956). Entretanto, mais recentemente TAUNAY e col. (1956), comparando métodos de colheita de material em adultos portadores de enterocolites crônicas, obtiveram melhores resultados quando examinaram fezes passadas naturalmente.

THOMAS (1954) indica várias falhas do "swab" retal e HARDY (1955) (um dos preconizadores do método por nós empregado), estudando a incidência de salmonelas em fezes de porcos, acentua que a colheita pelo "swab" feita logo após a morte do animal — com o esfíncter relaxado — permite o dôbro de isolamentos positivos, em confronto com a colheita no animal vivo. Dos mesmos animais, conseguiu resultados ainda melhores cultivando fezes obtidas no ceco.

Nos casos objeto do presente estudo (processos intestinais agudos) é natural que o número de germes das fezes seja muito grande, motivo por que resolvemos adotar o método do "swab"

preconizado por HARDY e WATT (1944), em virtude de sua simplicidade e da grande facilidade que oferece por permitir realizar a qualquer tempo a colheita do material para coprocultura. Necessário se fazia compará-lo com o exame das fezes passadas normalmente para nos certificar de que o método podia ser aplicado com segurança. Com essa finalidade, examinamos um grupo de 40 crianças da Clínica Pediátrica do Hospital das Clínicas de São Paulo, de idade variável entre 1 mês e 5 anos, tôdas padecentes de enterites agudas, de quem semeamos fezes colhidas naturalmente e pelo método do "swab", sendo que para a maioria delas o exame foi feito mais de uma vez. Ao todo realizamos 74 coproculturas para cada tipo de colheita (total 148). Tanto o "swab" como as fezes colhidas naturalmente foram semeados nos mesmos terrenos de cultivo (ágar S. S., meio de Holt-Harris-Teague e ágar-sangue) e dêles foi isolado igual número de colônias. Os resultados estão esquematizados no quadro II.

QUADRO II

ENTEROBACTERIA ISOLADA	" S W A B "			FEZES COLHIDAS NATURALMENTE		
	Pos.	Neg.	% Pos.	Pos.	Neg.	% Pos.
<i>E. coli</i> G.E.I.	15	59	21,4	18	56	24,3
Grupo <i>Shigella</i>	10	64	13,5	10	64	13,5
Grupo <i>Salmonella</i> (*)	1	73	1,3	1	73	1,3

(*) Das fezes semeadas em meio de selenito, isolamos mais 4 salmonelas após enriquecimento de 5 dias em estufa a 37° C.

Por aí se vê que as diferenças de positividade observadas para os germes do grupo *coli* G.E. I. não são significantes no sentido de indicar como melhor tal ou qual método de colheita, ficando unicamente comprovada a necessidade de empregar um meio de enriquecimento para salmonelas.

II — MÉTODOS BACTERIOLÓGICOS

O emprêgo de meios de cultura seletivos para o isolamento de enterobactérias patogênicas tem sido de tal modo estudado que julgamos fastidioso insistir no assunto. Todavia, o problema merece debatido no caso particular do colibacilo e isto porque a maioria

dos meios empregues para a coprocultura contém em sua composição substâncias impeditivas para bactérias do grupo *coli*, o que obviamente nos obrigou a utilizar também terrenos de cultivo isentos das referidas substâncias (ágar-sangue). Por outro lado, os bacilos *coli* do grupo G. E. I. não possuem qualquer característica morfológica que os permita diferenciar dos outros tipos de *E. coli* e até hoje não se conhece qualquer método descrito para tal fim.

Recentemente GERBEAUX (1955) descreveu meio líquido destinado a promover o enriquecimento de *E. coli* G. E. I. em detrimento da flora habitual. Resolvemos, por isso, controlar a utilidade do citado meio de enriquecimento e, ao mesmo tempo, comparar alguns dos terrenos de cultivo habitualmente empregues na seleção de enterobactérias. Para êsse fim, fizemos 59 coproculturas (correspondentes a 31 crianças do grupo precedentemente estudado) com fezes colhidas pelo método do "swab" e semeadas ao mesmo tempo nos seguintes meios de cultura: ágar S.S., Holt-Harris-Teague, ágar-sangue e meio de Gerbeaux. Após 24 horas de incubação em estufa, o crescimento do meio de Gerbeaux era semeado em placas de Holt-Harris-Teague e ágar-sangue.

Para controlar a possibilidade de o meio de enriquecimento ser prejudicado pela passagem prévia do estilete pelas placas (S. S. e H. H. T.), colhemos fezes que foram emulsionadas em solução tamponada de glicerina-cloreto de sódio e meio de Gerbeaux e daí semeadas nos mesmos terrenos de cultivo, usando sempre a mesma técnica e isolando de tôdas as placas igual número de colônias. No quadro III estão esquematizados os resultados obtidos.

Analisando agora, globalmente, os quadros II e III, podemos concluir que a colheita das fezes pelo método "swab" pode ser empregue com segurança, restrição feita para a pesquisa de salmonelas.

Com relação aos meios de cultura, nossas verificações permitem concluir: 1) não há qualquer vantagem em usar o meio de enriquecimento de Gerbeaux para *E. coli* G. E. I.; 2) melhores resultados são obtidos mediante a associação de ágar S.S. e meio de Holt-Harris-Teague; 3) terrenos de cultura altamente seletivos (como o ágar S.S.) não devem ser utilizados isoladamente quando também se pretende o isolamento de *E. coli* G. E. I.

Diante desses resultados, estabelecemos a seguinte técnica, que foi usada para tôdas as crianças cujas fezes examinamos bacteriológicamente na presente pesquisa.

QUADRO III

Enterobactéria isolada	"SWAB" DIRETO									"SWAB" ENRIQUECIDO EM MEIO DE GERBEAUX					
	ÁGAR S.S.			H.H.T.			ÁGAR-SANGUE			H.H.T.			ÁGAR-SANGUE		
	Pos.	Neg.	%pos.	Pos.	Neg.	%pos.	Pos.	Neg.	%pos.	Pos.	Neg.	%pos.	Pos.	Neg.	%pos.
<i>E. coli</i> G. E. I.	5	54	8,4	12	47	20,3	9	50	15,2	7	52	12,1	6	53	10,1
<i>Shigella sp.</i>	7	52	12,1	3	56	5,0	0	59	0,0	0	59	0,0	0	59	0,0
<i>Salmonella sp.</i>	0	59	0,0	1	58	1,5	0	59	0,0	0	59	0,0	0	59	0,0
Enterobactéria isolada	FEZES EM GLICERINA									FEZES ENRIQUECIDAS EM MEIO DE GERBEAUX					
	ÁGAR S.S.			H.H.T.			ÁGAR-SANGUE			H.H.T.			ÁGAR-SANGUE		
	Pos.	Neg.	%pos.	Pos.	Neg.	%pos.	Pos.	Neg.	%pos.	Pos.	Neg.	%pos.	Pos.	Neg.	%pos.
<i>E. coli</i> G. E. I.	5	54	8,4	9	50	15,2	8	51	13,5	10	49	16,9	10	49	16,9
<i>Shigella sp.</i>	7	52	12,1	3	56	5,3	0	59	0,0	0	59	0,0	0	59	0,0
<i>Salmonella sp.</i>	1	58	1,5	0	59	0,0	0	59	0,0	0	59	0,0	0	59	0,0

1) — Colheita do material pelo método do "swab" retal, segundo a técnica de HARDY e WATT (1944).

2) — Semeadura em placas de ágar S. S. e de Holt-Harris-Teague.

3) — Semeadura das fezes que restam na cânula (assim como do restante que impregna o algodão do estilete) em meio de selenito, cujo crescimento, após incubação de 5 dias, será transplantado para meios de ágar S. S. e verde brilhante de Christensen-Jurgens-Kauffmann. Isolar uma média de 15 colônias, “pescando” as fermentadoras e as não fermentadoras da lactose. Tôdas as colônias são isoladas em meio de tríplice açúcar modificado (RUGAI) que, além da viragem clássica, nos informa quanto à capacidade do germe na produção de hidrogênio sulfurado e no desdobramento da uréia.

Quando a viragem do tríplice nos indica tratar-se de *Salmonella sp.* ou *Shigella sp.*, procedemos à identificação e tipagem de acôrdo com as normas preconizadas por TAUNAY (1951) e NOVAES e col. (1950). Nos tubos com viragem típica de bacilo do grupo coliforme, empregamos métodos que, por serem pouco usados, merecem descritos detalhadamente.

Identificação pròpriamente dita — A todos os tubos de tríplice açúcar modificado onde há produção de ácido e gás na base e no ápice: 1) juntar aproximadamente 0,5 cm³ de solução fisiológica estéril; 2) colocar dentro do tubo uma pequena porção de algodão hidrófilo; 3) com pipeta estirada, suspender o crescimento microbiano da parte inclinada do tubo, raspando a superfície do ágar com o algodão; 4) emulsionar os germes do algodão na solução fisiológica; 5) aspirar a suspensão através do algodão; 6) colocar sôbre os quadrados de uma placa de vidro tipo Huddleson tantas gotas dessa emulsão quantos forem os soros usados; 7) depositar sôbre cada gôta da emulsão 1 gôta de sôro prèviamente titulado; 8) misturar bem e proceder à leitura.

Quando positiva, a aglutinação é quase instantânea e dificilmente verificamos reações cruzadas entre os vários soros (quando estas ocorreram, as verificações sucessivas mostraram não se tratar de bacilo *coli* G. E. I.). Em todos os tubos em que há aglutinação, procedemos ao reisolamento do germe em placas de Holt-Harris-Teague a partir do restante das emulsões bacterianas existentes nos tubos de tríplice açúcar. Novamente procedemos à aglutinação em lâmina, tomando o cuidado de evitar qualquer contaminação da cultura.

Tal maneira de proceder só tem o inconveniente de obrigar o reisolamento do germe; todavia, nem uma só vez deixamos de recuperar nas placas de Holt-Harris-Teague a bactéria identificada na primeira aglutinação, apesar de usarmos uma só pipeta estirada

para aspirar tôdas as emulsões, assim demonstrando não haver possível contaminação que nos indicasse a necessidade de mudar de técnica. Esta, por sua simplicidade e rapidez, permite examinar dezenas de tubos em tempo muito limitado e nisto consiste sua primordial vantagem.

Procede-se finalmente à identificação sorológica empregando dois antígenos, um de germes vivos e outro de bactérias mortas pelo aquecimento a 100° C durante 1 hora. As provas de aglutinação são feitas em tubo em diluições sucessivas correspondentes aos títulos dos soros, permanecendo as reações em estufa a 37° C para leitura após 24 horas. Na maioria dos casos ainda se faz uma prova de confirmação: aglutinações com sôro O usando como antígeno emulsões autoclavadas a 120° C por meia hora. Procede-se ulteriormente à identificação dos antígenos flagelares.

As reações positivas eram confirmadas mediante aglutinações em tubo até o título do mesmo sôro que fôra positivo em lâmina. Sômente os germes que superavam tôdas essas provas eram considerados pertencentes ao grupo G. E. I.

Procedemos ulteriormente à identificação dos antígenos flagelares e como não dispomos de uma coleção completa de amostras padrões de *E. coli*, só pudemos preparar 4 soros flagelares (H 2 — H 12 — H 11 — H 6), que foram usados para complementar a identificação, uma vez que o germe pôde ser identificado pelos seus antígenos O-K, havendo interêsse em diferenciá-los pelo antígeno H sômente quando se procede a investigações epidemiológicas.

A razão de assim proceder decorre do fato de que os bacilos do grupo *coli* podem possuir três tipos de antígenos: 1) somático O, específico do grupo, caracterizado por sua termo-resistência e não ser degradado pelo álcool; 2) as formas móveis possuem também um antígeno flagelar H, termolábil, resistente ao formol e sempre monofásico; 3) além dêsses, podem apresentar um terceiro, que é, por assim dizer, o antígeno de envoltório, denominado K. A denominação antígeno K não é sinônimo de antígeno capsular: designa antígenos de superfície e capsulares que podem estar presentes em *E. coli*.

O antígeno K pode ser: L — antígeno de superfície; A — que deve ser considerado como o verdadeiro antígeno capsular; B — antígeno de envoltório que, como o antígeno L, é termolábil, diferenciando-se dêste por não perder a capacidade de remover aglutininas pelo aquecimento a 100° C. De todos os antígenos K,

é justamente o antígeno B o que tem maior interêsse na identificação de *E. coli* G. E. I.

Até agora não foi possível preparar soros B puros, porque se o calor inibe a aglutinabilidade desse antígeno, não o destrói a ponto de impedir que sature as aglutininas de um sôro OB. O fato de não conhecermos germes desses grupos possuindo antígenos (O) somáticos iguais e B diferentes impede que se utilize a absorção de aglutininas.

Estabelecidos êsses pontos, podemos preparar soros a partir de germes vivos, portanto contendo antígenos OB capazes de aglutinar em lâmina as culturas correspondentes. Nas aglutinações feitas em tubo, com incubação em estufa, usando germes vivos como antígeno, obtemos baixos títulos aglutinantes, havendo formação de conglomerados granuloses. Se êsses antígenos forem aquecidos a 100° C por uma hora, com a inativação do antígeno B veremos aparecer a aglutinação O, esta em títulos elevados (1/5.000 ou mais), enquanto a aglutinação B não ultrapassa em geral de 1/3 o título aglutinante O.

Preparamos soros OB imunizando coelhos, por via venosa, com culturas vivas de germes semeados em ágar comum. Fizemos cinco inoculações em dias alternados atingindo cêrca de 5 bilhões de germes, sangrando os animais 5 dias após a última inoculação. Obtivemos com facilidade soros com títulos aglutinantes OB de 1/30 (em lâmina) e O, de 1/6.400 (em tubos).

Soros O foram obtidos a partir de culturas de 24 horas em ágar comum, cujas emulsões eram mortas em autoclave a 120° C por 2 horas. O esquema de inoculação foi o mesmo e os títulos obtidos em geral estavam em tórno de 1/2.000.

Na preparação de soros H, tivemos muitas dificuldades. As culturas utilizadas para preparo de tais soros, inicialmente imóveis, obrigaram-nos a grande trabalho para induzir-lhes movimento. Para isso, usamos a técnica preconizada por CRAIGIE (1931), alterando unicamente o meio de cultura, a que adicionamos 0,5 por mil de glicose e indicador de azul de bromotimol. O emprêgo desse ágar semi-sólido modificado facilita a verificação da motilidade do germe, que pode ser acompanhada pela viragem do meio de cultura. Consideramos a cultura satisfatòriamente móvel quando capaz de passar do ágar do tubo central para a superfície superior em 24 horas. Daí fizemos transplantes para tubos de caldo comum que, depois de incubados por 24 horas em estufa, eram formolados a 0,4%.

As culturas assim obtidas serviram para o preparo de soros aglutinantes e foram também usadas como antígeno nas reações de aglutinação. No caso de aglutinações com antígeno H, as reações foram feitas em banho-maria a 52° C por 2 horas, quando se procedia à leitura. Não conseguimos títulos aglutinantes flagelares superiores a 1/2.000, apesar de havermos obtido culturas muito móveis, motilidade essa verificada nos tubos de Craigie e em gôta pendente.

Finalmente, tôdas as culturas foram examinadas do ponto de vista biomorfológico, tendo sido testadas bioquimicamente as amostras de *E. coli* G. E. I., cujos resultados se acham resumidos no quadro IV.

QUADRO IV

BIOQUÍMICA	Grupo 0 111		Grupo 0 86		Grupo 0 55	
	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.
Dextrose	98	0	8	0	3	0
Lactose	98	0	8	0	3	0
Sacarose	98	0	6	2	3	0
Inosita	98	0	8	0	3	0
H ₂ S	0	98	0	8	0	3
Uréia	0	98	0	8	0	3
Citrato	1	97	0	8	0	3
V.P.	0	98	0	8	0	3
V.M.	98	0	8	0	3	0

Pela análise do quadro IV, verifica-se que tôdas as amostras estudadas se enquadram perfeitamente na espécie *E. coli*, uma só delas se tendo mostrado capaz de utilizar o citrato como fonte de carbono.

RESULTADOS

Os resultados que serão apresentados referem-se a três grupos de crianças portadoras de gastroenterite aguda.

1.º grupo — Quarenta crianças de idade variável entre 1 mês e 5 anos que serviram para comparar os métodos de trabalho utilizados, internadas na Clínica Pediátrica do Hospital das Clínicas de São Paulo (*). O exame foi realizado quando da internação e os resultados acham-se esquematizados no quadro V.

(*) Os A. A. agradecem ao dr. Azarias de Andrade Carvalho pelas facilidades concedidas na obtenção do material.

QUADRO V

Enterobactérias patogênicas (*)	Negativos	Positivos
<i>E. coli</i> 0 111:B4		7(26,9%)
<i>E. coli</i> 0 86:B7		2(7,6%)
<i>S. newport</i> + <i>E. coli</i> 0 111:B4		1(3,8%)
<i>Sh. flexneri</i>		5(19,2%)
<i>Sh. sonnei</i>		4(15,3%)
<i>Sh. dysenteriae</i> 2		1(3,8%)
<i>Salmonella</i> sp.		5(19,2%)
<i>Sh. flexneri</i> + <i>S. montevideo</i>		1(3,8%)
TOTAL	14(35%)	26(65 %)

(*) Soros *E. coli* G.E.I. usados na identificação: 0 111, 0 55, 0,26, 0,86.

2.º grupo — O segundo grupo compreende 90 crianças, na sua quase totalidade menores de 2 anos, internadas no Serviço de Hidratação da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, apresentando distúrbio nutritivo agudo. Acusavam desidratação de maior ou menor gravidade, necessitando tôdas elas de re-hidratação endovenosa. A diarréia, às vêzes precedida por vômitos mais ou menos intensos, foi sintoma constante. As deposições, em número variável (em média mais de 10 por dia), eram muco-sanguinolentas em 15% dos casos. Por ocasião da hospitalização, cêrca de 80% dessas crianças apresentavam temperatura elevada.

Na sua grande maioria, as crianças provinham de bairros periféricos da cidade onde as condições econômico-sociais deixam muito a desejar: alimentação deficiente, água de poço na quase totalidade das casas, falta de esgôto, condições de higiene e habitação péssimas. Nestas condições, elevado número de crianças, além do distúrbio nutritivo agudo que motivou sua internação de urgência, apresentava grau variável de desnutrição (cêrca de 65%). Na sua quase totalidade, os lactentes eram alimentados artificialmente em condições de técnica e higiene precárias. Deve-se salientar que essas crianças não receberam qualquer tratamento medicamentoso anteriormente a seu atendimento e internação.

Para êste grupo foram usados na identificação dos bacilos *coli* os seguintes soros *E. coli* G. E. I.: 0 111, 0 55, 0 25, 0 86, 0 25, 0 127. Paralelamente se fêz uma verificação de estafilococos com prova de coagulase positiva. Os resultados do 2.º grupo estão resumidos no quadro VI.

QUADRO VI

Enterobactérias patogênicas	Positivos	Negativos
<i>E. coli</i> 0 111	15(16,6%)	
<i>E. coli</i> 0 55	2(2,2%)	
<i>E. coli</i> 0 111 + 0 26	1(1,1%)	
<i>E. coli</i> 0 55 + <i>Salmonella</i> sp.	1(1,1%)	
<i>E. coli</i> 0 111 + <i>Sh. flexneri</i>	1(1,1%)	
<i>E. coli</i> 0 111 + <i>Sh. sonnei</i>	2(2,2%)	
<i>Sh. flexneri</i>	5(5,5%)	
<i>Sh. sonnei</i>	1(1,1%)	
<i>Sh. alkalescens</i>	1(1,1%)	
<i>Salmonella</i> sp.	4(4,4%)	
TOTAL	33(36,4%)	57(63,4%)

Isolamos estafilococos coagulase-positivos em 45,5% dos casos, porcentagem que também assinalamos em fezes normais.

3.^o grupo — 159 prematuros ou recém-nascidos com menos de 30 dias, sendo 138 portadores de gastroenterite aguda e 21 normais, todos da Clínica Obstétrica do Hospital das Clínicas de São Paulo. (*) Tratava-se de crianças que ainda não haviam deixado o hospital após o nascimento, de outras que aí vieram ter por moléstia diarréica, em consequência de outra afecção ou ainda devido a internação da mãe. Os resultados estão sintetizados no quadro VII. A verificação de *E. coli* foi feita para os grupos 0 111, 0 55, 0 86 e 0 26.

QUADRO VII

Crianças	Números	Positivas <i>E. coli</i> G.E.I.		Negativas <i>E. coli</i> G.E.I.	
		Êxito letal	Sobreviveram	Êxito letal	Sobreviveram
Internadas por moléstia diarréica .	17	3	2	6	6
Internadas por moléstia não diarréica	55	17	16	8	14
Nascidas no hospital	66	15	18	3	30
Grupo testemunho	21	0	2	1	18
TOTAL	159	35 (+)	38	18	68

(+) Das 35 amostras isoladas, 31 correspondiam ao grupo 0 111 e 4 ao grupo 0 86.

(*) Os A. A. agradecem ao dr. W. Henrique Cardim pelas facilidades concedidas na obtenção do material.

Os quadros V, VI e VII mostram muito claramente a incidência elevada de *E. coli* G. E. I. em qualquer dos grupos examinados, nitidamente superior à de qualquer outra enterobactéria patogênica. Demonstram também a necessidade de se procurar evidenciar êsse tipo de germe quando se pesquisam bactérias enteropatogênicas. Os dados do quadro VII sugerem ser o germe encontrado pelo menos uma concausa do elevado êxito letal verificado. Nos 71 recém-nascidos nos quais se isolou *E. coli* G. E. I. houve 35 óbitos, ou seja quase 50%, contrastando nitidamente com o grupo de 67 crianças com diarréia e exame negativo, onde o êxito letal foi somente 17 ou seja 25,3%.

Que os colibacilos isolados não podem ser considerados como comensais habituais do intestino assim o demonstra a sua baixa incidência no grupo normal (9,5%), contrastando nitidamente com a cifra dos portadores de diarréia (50,7%), notando-se que o grupo normal habitava o mesmo ambiente.

PESQUISA DE ANTICORPOS ESPECÍFICOS NO SÔRO

A presença de anticorpos sanguíneos específicos contra *E. coli* 0 111 tem sido constatada por vários autores, em geral em títulos baixos e número relativamente pequeno de crianças portadoras de infecção entérica. ADAMSON e col. (1951) e NETER e col. (1955) demonstraram que anticorpos correspondentes a *E. coli* não passam do organismo materno para o fetal e que, quando presentes na criança, sugerem infecção pós-natal. NETER e col. (1953) também verificaram aumento da taxa de anticorpos específicos em voluntários, após ingestão de *E. coli* 0 55.

Nessas condições, a demonstração de anticorpos sanguíneos específicos contra o colibacilo G. E. I. vem comprovar a importância etiopatológica do germe em questão e provavelmente os títulos baixos em que têm sido assinalados devem correr por conta da localização quase exclusivamente intestinal do processo bacteriano, sem invasão sistêmica, fenômeno também observado na disenteria bacilar.

Os métodos usados para a pesquisa de anticorpos específicos contra as enterobactérias quase sempre se baseiam na aglutinação bacteriana em presença do sôro do paciente e na reação de hemaglutinação. Como a primeira se tem mostrado muito pouco sensível, NETER e col. (1952) sugeriram a hemaglutinação com fundamento no fato de o antígeno somático de *E. coli* ser rapidamente adsorvido por hemácias e serem estas — assim modificadas — aglutináveis especificamente pelos anticorpos homólogos.

Tendo em vista os poucos resultados propiciados por essas duas provas na pesquisa de anticorpos específicos contra *E. coli* 0 111 : B 4, que é o mais freqüente, decidimos ensaiar novo método constituído por reação de microfloculação do tipo da prova V. D. R. L. para sífilis, na qual a cardiolípina é substituída pelo antígeno bacteriano de *E. coli*. Reação desse tipo já fôra experimentada por HUNTER e col. (1956) na pesquisa de anticorpos contra *Brucella* com resultados equivalentes aos da aglutinação bacteriana e apresentando a vantagem de se trabalhar sempre com antígeno bem estandardizado. Na presente investigação, os resultados da pesquisa de anticorpos pela nova prova de microfloculação são confrontados aos da hemaglutinação e da aglutinação simples.

MATERIAL E MÉTODOS

Tôda vez que foi possível, obtivemos sangue dos recém-nascidos e dos infantes cujas fezes nos serviram para comparar métodos de colheita e técnicas bacteriológicas. Como assinalado anteriormente, o grupo infetado com *E. coli* 0 111 : B 4 representa a maioria das nossas coproculturas positivas; por isso, limitamos nossas pesquisas a êsse tipo de anticorpo. Examinamos soros de 37 infantes (cuja idade variou de 2 meses a 5 anos) e 41 recém-nascidos (até um mês de idade). Os soros foram conservados a -60° C até a ocasião de serem testados.

I — AGLUTINAÇÃO BACTERIANA

Técnica — Soros diluídos de 1/10 até 1/40; antígeno bacteriano obtido de cultura de *E. coli* 0 111 : B 4 (24 horas em estufa) semeada em ágar comum e suspensa em solução fisiológica e depois fervida em banho-maria por 30 minutos. Concentração usada para o antígeno equivalente ao tubo 3 da escala de Mac Farland. Incubação e leitura tipo reação de Widal.

II — HEMAGLUTINAÇÃO

Antígeno — Culturas de *E. coli* 0 111 : B 4 semeadas em frascos de Roux com ágar comum e incubadas 24 horas a 37° C. O crescimento bacteriano foi suspenso em solução salina e depois autoclavado a 120° C por 15 minutos, então centrifugado a 4.000 rotações até que o líquido sobrenadante ficasse límpido e de côr ligeiramente amarelada; uma vez separado do depósito, estava pronto para servir como antígeno.

Hemácias — Usamos hemácias humanas tipo O Rh — negativo, obtidas do mesmo doador e conservadas na geladeira em solução B. R. K. Antes de sensibilizadas pelo antígeno, foram lavadas uma vez com solução salina simples.

Sensibilização — Mistura antígeno + hemácias (1,5%) uma hora em banho-maria a 37° C, agitando freqüentemente. Centrifugação e lavagem consecutiva das hemácias em salina, finalmente suspendendo-as em solução fisiológica na proporção de 1,5%. A reação pròpriamente dita consistiu em fazer diluições seriadas do sôro de 1/5 até 1/320 em volumes de 0,5 cm³, aos quais juntamos 0,5 cm³ da suspensão de hemácias prèviamente sensibilizadas, duplicando assim as diluições. Incubação de 1 hora em banho-maria a 37° C com leitura imediata e repetida no dia seguinte, após 18 horas em geladeira.

Só foram consideradas positivas as reações que apresentavam hemácias bem aglutinadas depois de agitadas, grumos êstes que só se desfazem após forte agitação. Além dos testemunhos das hemácias, fizemos também um contrôle com sôro de coelho prèviamente imunizado com *E. coli* 0 111 : B 4, para comprovar a adsorção do antígeno por parte das hemácias.

III — REAÇÃO DE MICROFLOCULAÇÃO COM ANTÍGENO LECITINO-COLESTEROLIZADO

Reativos utilizados: 1) solução alcoólica de colesterol a 1%; 2) solução alcoólica de lecitina “ex-beef” a 1% (“Sylvana Chemical Company”); 3) solução tampão de Eagle; 4) água destilada de pH 6 aproximado; 5) antígeno bacteriano: o mesmo utilizado na reação de hemaglutinação.

Preparo do antígeno — Num frasco com capacidade de 5 cm de fundo chato, juntar: 1) 0,85 cm³ de água destilada pH 6 aproximado; 2) gotejar, com pipeta, 1 cm³ da solução de colesterol a 1%, agitando constantemente; 3) adicionar a quantidade de lecitina prèviamente determinada (ver: titulação do antígeno), agitando fortemente durante 1 minuto; 4) juntar a quantidade de antígeno bacteriano prèviamente determinada (ver: titulação do antígeno) e agitar fortemente por 30 segundos; 5) acrescentar 2,5 cm³ da solução tamponada de Eagle e agitar mais 30 segundos.

Titulação do antígeno — Na titulação do antígeno, variam sòmente as quantidades dêste e da lecitina. Procedese pelo modo descrito acima, ensaiando volumes de 0,05, 0,10, 0,15, e 0,20 cm³ de lecitina frente a quantidades de 0,15, 0,20, 0,25, 0,30 e 0,40 cm³

de antígeno. Este foi titulado na presença de soros de coelhos previamente imunizados com *E. coli* 0 111 : B 4. Utilizamos 4 diferentes soros (obtidos mediante inoculação de germes vivos, mortos pelo calor e autoclavados) em diluições que variaram de 1/5 a 1/20 e determinamos como ótimos os volumes de 0,10 cm³ de lecitina e de 0,30 cm³ de antígeno.

O antígeno bacteriano foi também testado face a três diferentes anti-soros 0 55 : B5, 0 86 : B7 e 0 26 : B6 com resultado completamente negativo, o que atesta a sua especificidade.

Tanto na titulação do antígeno, como para a execução da reação, procede-se do mesmo modo: 1) em placas de vidro escavadas ou com anéis de parafina, colocar 0,05 cm³ do sôro em exame; 2) sôbre êste, com agulha calibre 18, deixar cair uma gôta de antígeno; 3) misturar em agitador mecânico (180 rotações por minuto) durante 5 minutos; 4) leitura microscópica, considerando positivas as reações em que há nítida formação de flocos.

A dificuldade em obter sôro para realizar as três reações (aglutinação, hemaglutinação e microfloculação) limitou nosso estudo a um grupo de 37 infantes e 12 recém-nascidos. Dêste último grupo, e mais 29 casos, conseguimos sangue ainda suficiente para a reação de microfloculação.

Por outro lado, em 17 crianças realizamos sangrias sucessivas no decorrer da infecção, o que nos permitiu verificar a época do aparecimento dos anticorpos e relacioná-la com os resultados da coprocultura, também repetida nas mesmas ocasiões.

Tomados englobadamente, os resultados da pesquisa de anticorpos com as três reações estão reproduzidos no quadro VIII.

QUADRO VIII

Idade	Número de casos	Hemaglutinação		Aglutinação bacteriana		Microfloculação	
		Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.
Recém-nascidos	12 (+)	0	12	0	12	2	10
Crianças com mais de 1 mês	37	10	27	0	37	18	19

(+) Além destes, 29 soros foram testados somente pela reação de microfloculação, com resultados negativos na sua totalidade.

A análise dos dados do quadro VIII nos levou à seguinte conclusão inicial: 1) a aglutinação bacteriana não se mostrou sensível; 2) existe nítida diferença entre os resultados da microfloculação e da hemaglutinação com relação aos grupos de crianças de menor e maior idade.

Quanto ao valor da hemaglutinação e da microfloculação, melhor será compreendido quando analisarmos seus resultados comparativamente caso por caso e de acôrdo com a ordem crescente de idade das crianças. Tais dados estão reproduzidos no quadro IX.

QUADRO IX

N.º	Nome	Data da colheita do soro	Idade	Hemaglutinação	Microfloculação	Coprocultura
1	C.A.A.	25- 7-56	2 meses	—	—	negativa
2	D.M.S.	28- 4-56	2 meses	—	—	<i>E. coli</i> 0 111: B4
		11- 5-56	2 meses	—	—	negativa
3	G.S.L.	7- 6-56	2 meses	—	—	negativa
		13- 6-56	2 meses	—	—	negativa
4	J.R.	7- 5-56	2 meses	—	—	negativa
5	J.G.F.	24- 8-55	2 meses	—	—	<i>Sh. flexneri</i>
		26- 8-55	2 meses	—	—	negativa
6	L.A.M.	26- 7-56	2 meses	—	—	<i>Sh. dysenteriae</i> 2
7	M.L.S.	5-12-55	2 meses	—	—	negativa
8	N.W. Jr.	1- 8-56	2 meses	—	—	negativa
9	V.M.	10- 4-56	2 meses	—	—	negativa
10	W.M.F.	7- 6-56	2 meses	—	—	negativa
11	A.F.R.	3- 5-56	3 meses	—	—	<i>E. coli</i> 0 111: B4 + <i>Sh. flexneri</i> 6 + <i>S. newport</i>
		24- 4-56	3 meses	—	—	negativa
12	C.M.O.	11- 7-56	3 meses	—	—	<i>S. derby</i>
		16- 7-56	3 meses	—	—	<i>S. derby</i>
13	F.A.O.	24- 7-56	3 meses	—	—	<i>E. coli</i> 0 111: B4
14	L.G.	12- 7-56	3 meses	—	+	<i>E. coli</i> 0 86
15	M.A.S.	25- 7-56	3 meses	—	—	negativa
16	N.P.A.	27- 1-56	3 meses	—	+	negativa
17	S.F.	12- 9-55	3 meses	—	—	<i>Sh. sonnei</i>
		26- 9-55	3 meses	—	—	negativa
18	W.S.	23- 2-56	3 meses	—	—	negativa
		17- 3-56	3 meses	—	+	<i>E. coli</i> 0 111: B4
19	A.B.S.	4- 7-56	4 meses	—	—	negativa
		10- 7-56	4 meses	—	—	negativa
20	A.R.S.	5- 7-56	4 meses	—	—	<i>E. coli</i> 0 111: B4
		10- 7-56	4 meses	—	+	<i>E. coli</i> 0 111: B4
		18- 7-56	4 meses	—	+	negativa
21	D.C.S.	20- 3-56	4 meses	—	—	<i>E. coli</i> 0 111: B4
22	J.P.	7- 6-56	4 meses	—	+	<i>Sh. sonnei</i>
		12- 6-56	4 meses	—	+	negativa
23	J.A.S.	17- 5-56	4 meses	—	—	negativa
24	P.V.D.	8-10-56	5 meses	1/40	+	negativa
25	S.A.P.	19-10-55	5 meses	1/10	+	<i>E. coli</i> 0 111: B4
26	L.R.C.	3- 2-56	8 meses	—	—	<i>Sh. flexneri</i>
27	O.T.	15- 5-56	8 meses	1/80	+	<i>Sh. flexneri</i>
		18- 5-56	8 meses	—	+	<i>Sh. flexneri</i>
		28- 5-56	8 meses	—	+	negativa

(Continua)

QUADRO IX — (Continuação)

N.º	Nome	Data da colheita do soro	Idade	Hemaglutinação	Microfloculação	Coprocultura
28	W.A.N.	22- 6-56	8 meses	—	—	<i>S. derby</i>
		26- 6-56	8 meses	—	—	negativa
		2- 7-56	8 meses	—	—	<i>E. coli</i> 0 111: B4
		23- 7-56	8 meses	1/10	+	negativa
29	C.A.L.	4- 7-56	10 meses	1/20	+	<i>Sh. flexneri</i>
30	M.A.F.	25- 7-56	12 meses	1/40	+	negativa
31	Z.M.N.	7-11-55	12 meses	—	+	<i>Sh. flexneri</i>
32	A.S.T.	15- 5-56	13 meses	—	—	negativa
33	M.M.P.	3- 4-56	15 meses	1/40	—	<i>S. montevideo</i>
		18- 4-56	15 meses	—	—	<i>E. coli</i> 0 86
34	C.G.M.	23- 5-56	18 meses	1/40	+	negativa
		26- 5-56	18 meses	1/40	+	<i>E. coli</i> 0 111: B4
35	D.M.S.	21- 6-56	19 meses	—	—	negativa
		26- 6-56	19 meses	1/80	+	negativa
36	O.M.G.	13- 4-56	2 anos	—	+	<i>S. paratyphi</i> B
		23- 4-56	2 anos	—	—	<i>S. paratyphi</i> B
37	A.M.O.	17- 4-56	5 anos	—	+	<i>Sh. sonnei</i>
		2- 5-56	5 anos	1/80	+	<i>Sh. sonnei</i>
		18- 5-56	5 anos	—	+	<i>Sh. sonnei</i>

Ao analisar os dados do quadro IX, novamente chama atenção o fato de as reações positivas serem muito mais freqüentes acima dos três meses de idade. No grupo etário de 2 meses (dez casos), a pesquisa de anticorpos específicos no soro foi sempre negativa, apesar de uma dessas crianças (D.M.S.) apresentar o germe nas fezes. Dos três aos quatro meses, começa a aparecer maior número de resultados positivos, entretanto só na reação de microfloculação (casos 14, 16, 18, 20 e 22). Como *E. coli* 0 111 : B4 foi isolado das fezes nos casos 11, 13, 18, 20 e 21, só duas vezes houve concordância entre coprocultura e pesquisas de anticorpos, notando-se que as provas sorológicas só se mostraram positivas após a segunda sangria.

No grupo etário de 5 a 12 meses (7 casos), tanto hemaglutinação como microfloculação foram positivas em 6 crianças, sendo que em 2 delas (n.ºs 25 e 28) a coprocultura comprovou a presença de *E. coli* 0 111 : B4.

A reação de microfloculação se mostrou constante porque em tôdas as vezes que foi positiva, continuou a sê-lo nas sangrias subseqüentes, o que não aconteceu com a hemaglutinação (caso 27). Aqui também verificamos o mesmo fato anteriormente descrito, isto é, o das reações negativas nas primeiras sangrias que se mostram positivas com o decorrer do tempo (caso 28).

De 1 a 5 anos (5 casos), as duas reações concordaram em três casos e somente numa criança (n.º 34) o germe foi encontrado

nas fezes. Novamente as reações de microfloculação deram resultados mais constantes (ver caso 37).

Do total de 41 recém-nascidos estudados, em 16 o germe foi isolado das fezes. Neste grupo, a pesquisa de anticorpos específicos foi positiva duas vezes (microfloculação), justamente em crianças que apresentaram *E. coli* 0 111 : B4 nas fezes.

Acreditamos que a pesquisa de anticorpos sanguíneos correspondentes ao antígeno *coli* 0 111 : B4 poderia ser feita em melhores condições de sensibilidade e de reprodutibilidade com antígeno bacteriano lecitinado e colesterolizado, de acôrdo com a técnica que indicamos na presente investigação.

Utilizando sangue das crianças pertencentes ao segundo grupo de nossa investigação, praticamos reações de microfloculação, desta vez utilizando como antígenos todos os tipos de *E. coli* G. E. I. que possuíamos. Determinamos primeiramente as concentrações ótimas de antígeno e de lecitina para cada grupo e as testamos frente a soros aglutinantes obtidos em coelho e que correspondiam aos vários tipos de *E. coli* G. E. I., para verificar se existiam reações cruzadas. Constatamos que a prova funcionava muito bem, era aparentemente muito específica e praticamente não se produziam reações de grupo.

Das 90 crianças observadas, obtivemos sangue de 48 com que praticamos a reação de microfloculação utilizando vários antígenos *E. coli* G. E. I. No quadro X estão reproduzidos os resultados obtidos.

QUADRO X

	<i>E. coli</i> 0 25	<i>E. coli</i> 0 26	<i>E. coli</i> 0 55	<i>E. coli</i> 0 86	<i>E. coli</i> 0 111
Positivos	16	12	12	19	13
Negativos	32	36	36	29	35

Tomando em consideração somente os casos positivos para *E. coli* 0 111, verificamos que das 13 vezes em que a reação foi positiva, o germe foi encontrado nas fezes em 9 casos e desses somente 6 tinham anticorpos sanguíneos. As reações positivas para outros tipos de *E. coli* G. E. I. são difíceis de interpretar uma vez que esses germes praticamente não foram encontrados durante a nossa investigação. Diferença tão marcante entre soros aglutinantes artificiais e soros naturais deve estar ligada ao fato de aquêles apresentarem altos títulos aglutinantes, ao contrário do que se passa na infecção intestinal em que os anticorpos sanguíneos apa-

recem em títulos baixos. Diante desses resultados, nenhum dos métodos por nós utilizados se afigura de valia como rotina diagnóstica.

VERIFICAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE *E. coli* O 111 : B4 AOS ANTIBIÓTICOS

Vários são os métodos propostos para a verificação *in vitro* da sensibilidade de uma bactéria a determinado antibiótico ou quimioterápico. Baseiam-se todos na inibição do crescimento bacteriano em presença de determinada quantidade da substância bactericida ou bacteriostática.

Desde que se demonstrou existir certo paralelismo entre as provas de verificação da sensibilidade do germe e os resultados obtidos na clínica, o emprêgo daquelas vem sendo quase obrigatório, conquanto ainda não exista uniformidade de opiniões sôbre o tipo de teste a ser utilizado.

Dos métodos preconizados para a realização de tais provas, dois são os mais empregados: o das diluições sucessivas e o dos discos de papel de filtro. O primeiro, factível em condições técnicas melhor controláveis, deveria dar resultados mais exatos porquanto permite determinar exatamente as concentrações de antibiótico ou quimioterápico capazes de inibir o crescimento bacteriano, possibilitando ainda verificar o valor das associações medicamentosas. A grande desvantagem deste método consiste na dificuldade de sua execução: cada antibiótico tem de ser usado separadamente em soluções-padrões que se alteram, o que obriga o pesquisador ao preparo constante de novos solutos padronizados. Ademais, requer grande bateria de tubos, tanto maior quanto mais numerosas forem as substâncias em prova. Para sua execução são necessárias várias pipetagens e abundante vidraria estéril, o que o torna quase inexequível quando se desejam testar vários antibióticos a um só tempo — mesmo nos laboratórios bem aparelhados.

Ao contrário, o método dos discos não apresenta qualquer desses inconvenientes: trabalha-se com discos de papel de filtro impregnados com quantidades determinadas de tais ou quais antibióticos, que aí se conservam perfeitamente por longos períodos, quando mantidos em geladeira. Permite, em uma única placa de Petri, testar oito antibióticos e o trabalho técnico se limita a colocar os discos impregnados sôbre a superfície do meio de cultura previamente semeado com a bactéria em prova. Deve-se ter presente que o tipo de ágar, a espessura do meio de cultivo e o volume do

inoculum podem alterar os resultados (DEBEER e col. 1945), particularmente quando se desejam leituras quantitativas exatas. Se, entretanto, nos contentarmos com informações qualitativas sem a preocupação de leituras quantitativas baseadas na medida das áreas de inibição, seus resultados são perfeitamente satisfatórios para uso clínico, mesmo que pequenas variações de técnica sejam feitas (ERICSSON e col. 1954). Convirá lembrar que a prova dos discos indica tão somente a atividade bacteriostática do antibiótico. Antes de optar por um dos métodos, fêz-se uma comparação entre êles usando como antibiótico de prova a tetraciclina.

As técnicas usadas foram as seguintes.

I — MÉTODO DAS DILUIÇÕES SUCESSIVAS

1) Solução-padrão de tetraciclina em água, contendo 400 mcg. por centímetro cúbico.

2) Série de 10 tubos com 0,5 cm³ de caldo comum com exceção do primeiro.

3) Colocar 0,5 cm³ da solução de tetraciclina nos 1.º e 2.º tubos; misturar bem e, a partir do 2.º tubo, passar 0,5 cm³ para o 3.º e assim sucessivamente até o 9.º, desprezando o último 0,5 cm³.

4) Juntar a cada tubo 0,5 cm³ de uma diluição a 1/1.000 da cultura do germe em caldo com 18 a 24 horas de incubação; agitar bem.

5) Incubar a 37º C de um dia para outro, considerando como concentração inibitória mínima a do último tubo que, examinado microscòpicamente, não mostrar turvação, servindo o tubo que não leva tetraciclina como testemunho do crescimento bacteriano.

II — MÉTODO DOS DISCOS

1) *Discos usados* — Discos antibióticos que nos foram fornecidos pelo Instituto Hormoquímico e Biológico S. A. e alguns de tetraciclina cedidos pelo Laboratório Lederle. Os de sulfadiazina foram por nós preparados. Continham as seguintes concentrações de antibióticos: clorotetraciclina, 60 mcg.; oxitetraciclina, 60 mcg.; cloranfenicol, 60 mcg.; estreptomina, 100 mcg.; neomicina, 60 mcg.; polimixina, 30 unidades; sulfadiazina, 2 mg.

2) *Meio de cultura* — Como sempre testamos a sulfadiazina na mesma placa, optamos pelo meio de cultura descrito por CHABBERT e col. (1953), isento de peptona para evitar a inativação daquele sulfonamídico. Como única modificação, substituímos o sangue hemolisado de cavalo pelo de coelho. As placas usadas mediam 8 cm e continham 15 cm³ do meio. O ágar empregado nem sempre foi da mesma procedência.

3) *Inoculum* — Culturas de 24 horas em caldo comum.

4) *Execução das provas* — Depositam-se 3 gotas do caldo cultivado em pontos diferentes da placa, espalhando-as sobre toda a superfície do meio com um bastão em L. Depois de meia hora em temperatura ambiente, os discos são colocados sobre a superfície do meio, separados entre si por intervalo suficiente. Incubação em estufa a 37° C por 24 horas. Em nossas provas, usamos uma só concentração para cada antibiótico, uma vez que julgamos suficiente verificar se o germe seria ou não sensível.

5) *Interpretação dos resultados* — Consideramos o germe sensível a determinado antibiótico quando, em torno do disco correspondente, se forma halo bem nítido (sempre superior a 3 mm) sem o aparecimento de nenhuma colônia na zona de inibição; quando observada uma ou outra colônia dentro da área de inibição, procede-se à sua identificação para saber se se trata do germe em prova. Neste caso, mesmo o aparecimento de raras colônias na zona de inibição obriga a considerar o germe como resistente, porque tais colônias acusam a presença de mutantes com resistência ao antibiótico.

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS

QUADRO XI

MÉTODO DAS DILUIÇÕES		MÉTODOS DOS DISCOS			
Tetraciclina		Clorotetraciclina		Oxitetraciclina	
Concentração no meio	Número de amostras inibidas	Amostras sensíveis	Amostras resistentes	Amostras sensíveis	Amostras resistentes
100 mcg	54	0	54	0	54
50 mcg	1	0	1	0	1
25 mcg	2	2	0	2	0
12,5 mcg	3	3	0	3	0
6,25 mcg	1	0	1	0	1
3,12 mcg	1	1	0	1	0
1,56 mcg	6	5	1	5	1
0,78 mcg	11	11	0	11	0

Analisando o quadro XI verificamos que, de modo geral, os dois métodos são comparáveis. Notamos que as provas em tubo discordaram dos resultados dos discos por duas vezes: nas concentrações de 6,25 mcg e de 1,56 mcg. Entretanto, nestes dois casos havia na zona de inibição da placa certo número de colônias bem isoladas que, uma vez "pescadas" e repetida a prova de sensibilidade por diluição, se mostraram resistentes até concentrações respectivamente de 50 mcg e 12,5 mcg, o que indica claramente que na população bacteriana havia mutantes resistentes não reveladas pelo método das diluições.

Outra causa de erro que pode ser imputada ao método dos discos é a de indicar como sensíveis os germes inibidos pelas concentrações de 12,5 a 25 mcg, níveis terapêuticos muito altos para serem atingidos. Em nosso caso particular não é de maior interesse, porquanto as concentrações de droga no intestino atingem esses níveis nos esquemas terapêuticos habituais. Apesar disso, resolvemos repetir as provas nessas amostras, desta vez usando três discos com concentrações de 10, 30 e 60 mcg (quadro XII). Para a amostra ser considerada sensível deve ser inibida pelas três concentrações do antibiótico; se só o fôr pela última, deverá ser rotulada como pouco sensível.

QUADRO XII

Número de amostras	Concentração inibidora	Discos I.H.B.			Discos Lederle		
		10 mcg	30 mcg	60 mcg	10 mcg	30 mcg	60 mcg
2	25 mcg	Res.	Res.	Sens.	Res.	Res.	Sens.
3	12,5 mcg	Res.	Res.	Sens.	Res.	Res.	Sens.

Os resultados obtidos nos indicam que a prova do disco também para esses casos nos daria resultados satisfatórios, uma vez que as cinco amostras inibidas nas concentrações de 12,5 e 25 mcg seriam rotuladas como pouco sensíveis.

Ao fazer estas comparações, tivemos por finalidade única controlar a prova dos discos. Sabemos que o controle não foi perfeito, uma vez que foi feito só para um antibiótico, mas serviu para demonstrar que os dois métodos são equivalentes.

Com a maioria das amostras de *E. coli* G. E. I. por nós isoladas, procedemos à verificação da sensibilidade a alguns antibióticos e quimioterápicos usando o método do disco, que nos deu informação qualitativa bastante satisfatória. Para estas provas só usamos amostras *E. coli* 0 111 : B4 porquanto os outros tipos de *E. coli* só foram encontrados raramente e quase sempre associados a outra bactéria patogênica. A técnica usada foi idêntica à anteriormente descrita e os resultados acham-se resumidos no quadro XIII.

QUADRO XIII

ANTIBIÓTICO OU QUIMIOTERÁPICO	70 amostras de recém-nascidos que apresentaram diarreia durante a permanência no hospital		27 amostras de crianças internadas para tratamento (exame no ato da internação)	
	Sensíveis	Resistentes	Sensíveis	Resistentes
Cloranfenicol	29 (41,4%)	41 (58,6%)	25 (92,6%)	2 (7,4%)
Oxitetraciclina	19 (27,1%)	51 (72,9%)	23 (85,1%)	4 (14,9%)
Clorotetraciclina	19 (27,1%)	51 (72,9%)	24 (88,8%)	3 (11,2%)
Estreptomicina	1 (1,4%)	69 (99,6%)	2 (7,4%)	25 (92,6%)
Neomicina	69 (98,6%)	1 (1,4%)	27(100,0%)	0 (0,0%)
Polimixina	70(100,0%)	0 (0,0%)	27(100,0%)	0 (0,0%)
Sulfadiazina	2 (2,8%)	68 (97,2%)	0 (0,0%)	27(100,0%)

O grande número de amostras resistente aos derivados da tetraciclina e ao cloranfenicol assinalado no grupo em que a infecção estava ligada ao ambiente hospitalar (em nítido contraste com o outro grupo: infecção extra hospitalar) sugere que no hospital a bactéria adquire resistência a êsses antibióticos, tornando ainda mais complexo o problema da infecção hospitalar e indicando a necessidade de se realizarem tais determinações de forma sistemática com as substâncias antibióticas comumente empregues em determinado nosocômio.

Os resultados obtidos com a sulfadiazina possivelmente não exprimem a situação real, uma vez que as provas *in vitro* com sulfonamidas são prejudicadas por grande número de fatores que geram causas de êrro.

DISSEMINAÇÃO DA INFECÇÃO

Não pode haver mais dúvidas de que alguns tipos sorológicos de *E. coli* possuem a capacidade de provocar enterites agudas, sendo a êste respeito semelhantes aos bacilos disentéricos e às salmonelas. As crianças, principalmente as de menos de 1 ano de idade, são muito susceptíveis e a infecção pode-se difundir por contato. No entanto, para que isso ocorra será necessário que exista uma fonte de infecção e já são bem conhecidos os focos de infecção hospitalar devidos à contaminação do ambiente ou às infecções por contato direto, seja por objetos contaminados seja pela enfermagem, fato comprovado por ROGERS (1951) e outros. No caso presente, tais fatores devem ter sido responsáveis pela infecção de grande número de crianças nascidas no hospital.

Também é de interêsse o problema das infecções extra-hospitalares, presentes em grande número dos casos por nós estudados. Tal fato já nos despertara a atenção, ao verificar a ocorrência, na clínica particular, de enterites graves em que o único germe isolado das fezes (em cultura pura) era precisamente certo tipo de *E. coli* G. E. I.

A propósito, KAUFFMANN (1954) é de opinião que o verdadeiro foco da infecção é extra-hospitalar e que certamente a infecção é trazida de fora para dentro do hospital. Também ORSKOV (1951) já assinalara certas ligações entre a enterite dos bezerras e a diarréia infantil. STEVENSON (1952) encontrou *E. coli* 0 111 em 14 adultos com diarréia e em 0,5% de adultos normais. OCKLITZ e col. (1955) fizeram a mesma verificação em adultos normais que trabalhavam na enfermaria de uma maternidade. Por outro lado, BRAY (1945) refere o achado, em môscas que tinham acesso à enfermarias, de germes idênticos aos isolados das crianças infetadas.

A suspeita de que o reservatório principal da infecção seja o próprio homem nos levou a examinar 1.027 amostras de fezes, pesquisando a eventual presença de *E. coli* G. E. I. Nosso material não foi selecionado mas colhido de doentes de ambulatório dos quais obtivemos informações nulas. A técnica que empregamos foi a de rotina dos serviços de coprocultura, isto é, sementeira em meio de ágar SS e de Holt-Harris Teague e, a seguir, isolamento, identificação e tipagem sorológica do germe pelos métodos descritos anteriormente.

Das 1.027 fezes examinadas, isolamos 2.865 amostras de *E. coli*, as quais sucessivamente foram tipadas frente a 4 diferentes anti-

-soros para *E. coli* G. E. I., a saber: *E. coli* 0 111, *E. coli* 055, *E. coli* 086, *E. coli* 026.

Os resultados estão reproduzidos no quadro seguinte.

QUADRO XIV

N.º de exames	<i>E. coli</i> 0 111: B4	<i>E. coli</i> 055	<i>E. coli</i> 086	<i>E. coli</i> 026	Negativos
1.027	3	5	7	15	997

Dada a dificuldade em obtermos informações clínicas sobre a totalidade dos pacientes cujas fezes examinamos, limitamo-nos a referir os informes que conseguimos sobre os portadores de *E. coli* 0 111 - B4. Tratava-se de dois adultos e uma criança, todos do sexo feminino e que no momento do exame não apresentavam perturbações intestinais nem referiam contato recente com crianças portadoras de gastrenterite. Nos três casos o exame fôra solicitado para pesquisa de vermes e protozoários e, no caso da menina, para controle do tratamento de parasitose intestinal.

ENTERITE EXPERIMENTAL

De modo geral, a maioria dos animais de laboratório é refratária a infecções experimentais por enterobactérias; estas, quando relatadas como bem sucedidas, são passíveis de crítica porque, quase sempre, as vias de infecção (endovenosa ou intraperitoneal) e as doses usadas deixam dúvidas sobre se as lesões ou a morte do animal foram conseqüência de infecção verdadeira ou de toxemia provocada pelo número elevado de germes injetados.

A nosso ver, a enterite infantil por *E. coli* G. E. I. tem alguns pontos de semelhança com o *cholera morbus*, seja nos sintomas clínicos que produz como nas lesões anatômicas encontradas. Em ambos se encontra inflamação difusa da mucosa intestinal com destruição do epitélio superficial, sem tendência para lesões mais profundas ou formação de ulcerações. Do ponto de vista clínico, é comum o aparecimento da clássica diarreia, semelhante à água de arroz, raramente apresentando sangue e flocos de muco; portanto, quadro nitidamente intestinal, provocado pela ação direta das toxinas bacterianas sobre a mucosa entérica ou por ação central de substâncias tóxicas absorvidas no intestino.

Partindo dessa hipótese, procuramos nos inteirar sôbre quais os animais mais facilmente infetados pelo cólera experimental e verificamos que o cobaio, de todos usados, foi o mais sensível. FRETER (1955 e 1956), trabalhando com cólera experimental de cobaios e camundongos, obteve número de "pegas" muito constante, empregando técnica bastante simples e que consistia em inibir a flora normal e a motilidade intestinais, objetivo facilmente conseguido mediante administração de antibióticos e de morfina.

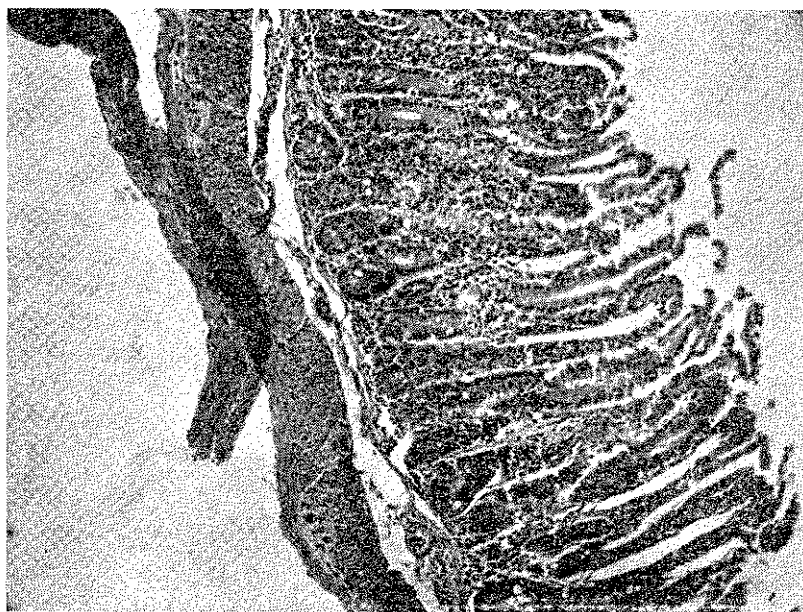
A técnica que seguimos, praticamente idêntica à de FRETER (1955), foi a seguinte: 1) os animais foram privados de alimentos (2 dias para camundongos e 3 dias para cobaios), dando-lhes água à vontade; 2) na manhã do dia da inoculação, os animais foram intubados com sonda de polietileno, introduzindo-se no estômago 1 mg de tetraciclina juntamente com solução de carbonato de cálcio a 2,5%, suspensas em 10 cm³ para os cobaios e 2 cm³ para os camundongos; 3) três horas depois, também por tubagem, administramos cultura de *E. coli* 0 111 : B4 em caldo, incubada a 37° C por 10 horas e diluída a 50% com solução salina estéril, à qual juntamos 250 mg de carbonato de sódio e 150 mg cm³ de sulfato de estreptomícina (10 cm³ para os cobaios e 3 cm³ para os camundongos); 4) meia hora mais tarde, injetamos, por via intraperitoneal, sulfato de morfina (8 mg para os cobaios e 1 mg para os camundongos).

As cepas de *E. coli* 0 111 : B4 usadas foram isoladas de casos graves de enterite e, quando testadas *in vitro*, se mostraram resistentes a concentrações superiores às dos dois antibióticos usados para inibir a flora normal.

Iniciamos nossas experiências com 3 lotes de 5 camundongos, empregando para cada lote amostra diferente de *E. coli* 0 111 : B4. Após 48 horas, obtivemos morte de 4 dos 15 animais inoculados e a autopsia acusou, em todos, edema acentuado de todo o intestino delgado, que estava cheio de líquido mucoso de côr achocolatada, de onde recuperamos culturas mistas, com ligeira predominância de *E. coli* 0 111 : B4. Nos restantes animais, exames das fezes realizados nos dois dias seguintes não revelaram a presença de *E. coli* 0 111 : B4.

Como considerássemos maus os resultados experimentais obtidos ("pega" inconstante da infecção), repetimos as inoculações, desta vez usando como animal de experiência o cobaio. Utilizamos animais de pêso médio 250 a 300 g, de preferência machos, que

foram inoculados por sondagem com 3 amostras diferentes de *E. coli* 0 111 : B4, dois cobaios para cada germe. Independentemente do germe usado, todos os animais morreram em prazos que variaram de 2 a 4 dias, tendo sido sua alimentação reiniciada 48 horas após a inoculação. Todos apresentaram diarréia e a autopsia revelou congestão difusa de todo o intestino, principalmente do delgado, que se apresentava cheio de líquido de côr castanho-avermelhada. Verificamos também que três dos cobaios tiveram morte súbita: estavam aparentemente bem por ocasião da inspeção diária e uma hora depois foram encontrados mortos.



Infecção experimental no cobaio com *E. coli* 0 111 : BA: *enterite aguda difusa*.

Repetimos por duas vezes as mesmas experiências, usando a amostra *E. coli* 0 111 : B4 que na primeira prova se mostrara capaz de produzir morte mais rápida. Em 10 cobaios inoculados, obtivemos morte de 9 animais nos mesmos prazos e com os mesmos achados intestinais, somente sem aparecimento da disenteria, que foi constante na primeira experiência.

Tanto no primeiro como no segundo ensaio, a cultura do delgado comprovou a presença de *E. coli* 0 111, nunca em cultura pura, sendo que em 5 animais do segundo grupo predominaram francamente bacilos do grupo *Proteus*. Do único animal que so-

breviveu, não nos foi possível isolar das fezes *E. coli* 0 111 : B4, em cultivos repetidos durante 5 dias.

Exames histopatológicos do intestino delgado foram realizados em 6 animais do segundo grupo: em 4 o diagnóstico foi de enterite aguda difusa (ver microfotografia); nos dois restantes, apenas congestão da mucosa intestinal, anotando o anátomo-patologista descamação da camada epitelial como achado constante.

Tentamos também provocar infecção experimental em dois coelhos pelo mesmo método, porém sem submeter o animal ao jejum prévio: nenhum dos animais apresentou qualquer sintoma da infecção e o germe não pôde ser recuperado das fezes.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A elevada incidência de *E. coli* G. E. I. nos recém-nascidos e nas crianças de mais idade padecentes de enterites agudas demonstra a importância desse germe na patologia infantil tanto no ambiente hospitalar como fora dele. É necessário assinalar que a presença de tais enterobactérias nas fezes de crianças nem sempre está associada com a moléstia: assim PAYNE e col. (1950) descreveram epidemias em que pequeno número de crianças foi afetado, a despeito de ser grande o número de portadores assintomáticos. Tal fato não invalida a evidência da patogenicidade de *E. coli* G. E. I., sendo fenômeno conhecido o achado de enterobactérias patogênicas em portadores sãos. TAUNAY e col. (1956) referem haver encontrado *E. coli* 0 111 : B4 em recém-nascidos normais que alguns dias mais tarde apresentaram diarreia.

A incidência maior da infecção se dá nos primeiros meses de vida, adquirindo a criança maior resistência com o tempo. Segundo NETER (1955), tal fenômeno deve estar ligado à presença dos anticorpos sanguíneos, que aparecem em porcentagem alta nas crianças de mais idade e nos adultos (fato que por nós não pôde ser confirmado) a indicar contacto com o germe no decurso do tempo.

Nos casos agudos, a quantidade dos germes eliminados pelas fezes torna seu achado muito fácil, principalmente quando se empregam meios de cultura sem substâncias bacteriostáticas para *E. coli*, como o de Holt-Harris-Teague. O sucesso no exame depende do número de colônias que se isolam, o que naturalmente acarreta trabalho subsequente maior. Todavia, desde que sejam empregados os métodos indicados na presente pesquisa, tal incon-

veniente desaparece porque a simples aglutinação em lâmina a partir dos tubos de tríplice açúcar modificado permite separar rapidamente tôdas as culturas de *E. coli* G. E. I. por processos perfeitamente compatíveis com a rotina de um laboratório medianamente equipado.

Sendo a infecção por *E. coli* G. E. I. moléstia que muitas vêzes assume grave caráter epidêmico, tôdo esforço para sua elucidação deve ser empreendido, ainda mais em nosso meio onde as enterites representam a maior causa de óbitos na primeira infância.

Apesar de não ter sido nossa finalidade a de estudar a moléstia nos seus aspectos clínicos e terapêuticos, sabemos que em relação ao valor terapêutico dêste ou daquele antibiótico ou quimioterápico são divergentes as opiniões, tendo sido esta a razão por que realizamos sistemáticamente provas de sensibilidade *in vitro* as quais, dentro de certos limites, espelham o que se passa no vivo.

Nossos dados indicam que o uso sistemático do cloranfenicol, da oxitetraclina e da clorotetraclina determinou o aparecimento de grande número de raças resistentes de *E. coli* G. E. I. no ambiente hospitalar, onde a infecção ocorreu sob forma endêmica e, algumas vêzes, epidêmica. Tal fato, revelado pelas provas de sensibilidade *in vitro*, foi comprovado também pelas coproculturas de crianças em tratamento, em quem não notamos diminuição dos germes nas fezes, como é a regra nos casos de bactérias sensíveis.

Fora do ambiente hospitalar a situação era diversa porquanto a maioria dos germes isolados mostrou-se sensível aos antibióticos comumente empregados. Assim sendo, parece-nos de menor valia prescrever normas para o emprêgo dêste ou daquele antibiótico: importante é saber qual a situação local com relação aos antibióticos usados rotineiramente, estabelecendo métodos de contrôle para constatar diferenças na sensibilidade aos preparados mais comumente utilizados, o que pode ser realizado com facilidade pelo método dos discos de papel impregnados com antibióticos, êstes de preferência em concentração média.

A se comprovarem as presentes verificações, talvez seja preferível adotar o critério de alguns pediatras que concedem maior importância aos cuidados gerais que ao emprêgo dos antibióticos, argumentando que muitas vêzes êstes provocam alterações tais na flora intestinal que sua administração só deve ser realizada com o máximo de critério.

Com relação às sulfonamidas, já assinalamos as restrições que devem ser feitas às provas *in vitro*. Não temos elementos nem

cabe no presente trabalho ajuizar do seu valor terapêutico, mas não podemos deixar de assinalar que ainda recentemente extensa investigação feita na Inglaterra pelo "Medical Research Council" concluiu sôbre a superioridade da sulfadiazina em confronto às outras substâncias bacteriostáticas ou bactericidas.

A infecção por *coli* G. E. I. tem sido considerada moléstia tipicamente hospitalar, cuja disseminação se faz comprovadamente por contato, contaminação de ambiente ou dos alimentos, pela enfermagem e pelos objetos de uso das crianças.

Entre nós, a enterite por *E. coli* G. E. I. existe em forma endêmica no hospital mas fora dêle sua freqüência também é muito elevada nas crianças de tenra idade, contribuindo o referido germe com maior porcentagem de casos de diarréia que as outras enterobactérias patogênicas.

A transmissão deve processar-se por forma semelhante à da disenteria bacilar, na qual as condições precárias de higiene favorecem extraordinariamente a disseminação seja por contato direto de indivíduo a indivíduo seja por contaminação de objetos ou alimentos. Tivemos oportunidade de constatar ser elevado o número dos portadores de *E. coli* G. E. I. (quadro XIV) em nosso meio.

Via de regra, as tentativas de reprodução experimental da infecção em animais têm dado resultados quase sempre negativos. O método por nós utilizado propiciou resultados muito satisfatórios e pôde ser reproduzido repetidas vêzes sempre que o animal de experiência foi o cobaio; as lesões que pudemos constatar, principalmente no intestino delgado, são características de enterite aguda e na quase totalidade das vêzes foram mortais. Nessas experiências, a necessidade de inibir a flora normal do intestino para que o processo se instale mostra que no animal o *coli* 0 111 : B4 só é patogênico quando livre da concorrência de outras bactérias. Esse fato vem em abono do critério terapêutico de não alterar abruptamente a flora intestinal, principalmente quando exista a possibilidade de nos encontrarmos frente a germes que se tornaram resistentes aos antibióticos e sulfonamídicos.

RESUMO

Os AA. realizaram uma série de investigações laboratoriais sôbre a enterite infantil por *Escherichia coli* G. E. I.

O material proveio de três grupos de crianças: 1.º) 40 crianças de idade variável entre 1 mês e 5 anos, que serviram para

comparar métodos de colheita e cultura, tôdas portadoras de enterites agudas, sendo a colheita das fezes feita no momento da hospitalização; 2.º) 90 crianças de idade variável entre 30 dias e 2 anos com distúrbio nutritivo agudo; 3.º) 159 prematuros ou recém-nascidos com menos de 30 dias, dos quais 138 com gastrenterite aguda e 21 normais, todos da Clínica Obstétrica do Hospital das Clínicas, da Universidade de São Paulo.

Usando fezes colhidas pelo "swab" retal (74 coproculturas), verificaram que os resultados foram equivalentes aos obtidos pela sementeira das fezes passadas naturalmente (74 coproculturas). O emprêgo de meios de enriquecimento (Gerbeaux, 1955), não aumentou o número de culturas positivas. Melhores resultados foram alcançados com o emprêgo combinado dos meios SS e de Holt-Harris-Teague, mesmo superiores aos do ágar-sangue.

A identificação de *E. coli* G. E. I. baseou-se nos caracteres morfológicos e antigênicos (aglutinação em lâmina, seguida por aglutinação lenta em tubo até o título do sôro).

A incidência da enterite por *E. coli* G. E. I. foi elevada, principalmente nos recém-nascidos portadores de gastrenterite:

	1.º Grupo	2.º Grupo	3.º Grupo	
			enterite	normal
<i>E. coli</i> 0 111	7	15	71	2
<i>E. coli</i> 0 55	0	2	0	0
<i>E. coli</i> 0 86	2	0	0	0
<i>E. coli</i> 0 111 + <i>E. coli</i> 0 86	0	1	0	0
<i>E. coli</i> 0 111 + <i>Shigella</i> sp.	0	3	0	0
<i>E. coli</i> 0 55 + <i>Salmonella</i> sp. ..	0	1	0	0
<i>E. coli</i> 0 111 + <i>Salmonella</i> sp. .	1	0	0	0
<i>Shigella</i> sp.	10	7	0	0
<i>Salmonella</i> sp.	5	4	0	0
<i>Shigella</i> sp. + <i>Salmonella</i> sp. ..	1	0	0	0
Negativos	14	57	67	19

A mortalidade no grupo dos recém-nascidos também foi bastante elevada: dos 71 com exame positivo para *E. coli* 0 111, 35 faleceram.

Comparam técnicas de aglutinação, hemaglutinação e microfloculação para pesquisa de anticorpos em alguns soros de crianças portadoras de gastroenterites; entretanto, os resultados obtidos não foram favoráveis para qualquer dos métodos empregues.

De tôdas as amostras de *E. coli* 0 111 : B4 isoladas, foram feitas provas de sensibilidade *in vitro* (método dos discos), para os seguintes antibióticos: cloranfenicol, oxitetraciclina, estreptomina, neomicina, polimixina e sulfadiazina. Concluíram que os antibiogramas correspondentes às tetraciclina e ao cloranfenicol eram equivalentes quando a bactéria isolada não provinha do hospital (1.º e 2.º grupos de crianças). Os germes isolados no hospital, evidenciaram aumento da resistência para as tetraciclina e o cloranfenicol. Acreditam não ser de maior valia prescrever normas para o emprêgo dêste ou daquele antibiótico: importante é saber qual a situação local com relação aos antibióticos usados rotineiramente.

Usando técnica semelhante à inicial, verificaram ser elevado o número de portadores normais de *E. coli* G. E. I. Examinaram 1.027 amostras de fezes; isolaram *E. coli* G. E. I. em 30. Finalmente, tentaram a infecção experimental no cobaio por introdução de bactérias diretamente no estômago. Em 16 animais infetados, obtiveram resultados positivos em 15 com quadro clínico e histopatológico de enterite aguda difusa e recuperação do germe nas fezes.

SUMMARY

Laboratory investigations of *Escherichia coli* (enteropathogenic coli) associated with enteric infection of children are reported. Specimens of feces were collected from the following groups of children: group I composed of 40 infants aged 1 month to 5 years whose material was collected on admission. The components of this group were admitted with acute enteritis and the material was examined by technics of isolation in order to compare these technics; group II was composed of 90 infants aged 30 days to 2 years with symptoms of severe enteric disturbances; group III was composed of 159 premature or newborn infants, all hospital delivered, with less than 30 days old. 138 of them had symptoms of an acute gastroenteritis and 21 were normal.

Cultures on 74 specimens of feces collected by rectal swab from group I gave similar results to those obtained on 74 specimens of feces collected by spontaneous defecation on the same group.

The investigators discovered that the use of enriched media (Gerbeaux, 1955) did not increase the number of positive cultures. Superior results were obtained by the combined use of SS and Holt-Harris-Teague media.

The identification of the *E. coli* was based on morphology and fermentation reactions. Antigenic analysis was performed by slide agglutination followed by slow tube agglutination.

The frequency of enteritis by *E. coli* (enteropathogenic *coli*) was high in all groups but higher in the newborn group (group III).

	Group I	Group II	Group III	
			enteritis	normal
<i>E. coli</i> 0 111	7	15	71	2
<i>E. coli</i> 0 55	0	2	0	0
<i>E. coli</i> 0 86	2	0	0	0
<i>E. coli</i> 0 111 + <i>E. coli</i> 0 86	0	1	0	0
<i>E. coli</i> 0 111 + <i>Shigella</i> sp.	0	3	0	0
<i>E. coli</i> 0 55 + <i>Salmonella</i> sp. ..	0	1	0	0
<i>E. coli</i> 0 111 + <i>Salmonella</i> sp. .	1	0	0	0
<i>Shigella</i> sp.	10	7	0	0
<i>Salmonella</i> sp.	5	4	0	0
<i>Shigella</i> sp. + <i>Salmonella</i> sp. ..	1	0	0	0
Negatives	14	57	67	19

The technics of agglutination, haemagglutination and micro-flocculation were compared for the detection of serum antibodies. The authors favor the last technic although none of the results was satisfactory.

From all isolated strains *E. coli* 0 111 B4 tests of sensivity *in vitro* (disk method) for the following drugs were performed: neomycin, polymyxin, sulphadiazine, chloramphenicol, oxytetracycline, chlortetracycline and streptomycin.

The authors came to the conclusion that antibiograms made with germs isolated from the first and second group were similar. In the third group it is noticed an increased resistance to tetra-

cycline and chloramphenicol. They emphasize the importance of to be acquainted with the local situation regarding the individual resistance of the patient against the commonest antibiotics used.

Using a similar technic, the authors made a search for normal carriers of enteropathogenic *coli* and isolated from 1027 samples 30 pathogenics.

Finally, they tried experimental infection on the guinea pig by introducing the germs directly into the stomach. In 16 infected animals, there were positive results in 15 cases with clinic and histopathologic picture of severe and diffuse enteritis and recovery of the germ from the feces.

BIBLIOGRAFIA

ADAMSON, C. A., S. LOPGREN, C. MALMNAS — 1951 — Antibodies in mothers and newborn infants. *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 3: 52-57.

ASSIS, A. — 1935 — Shigeloses crônicas. *Arch. bras. Med.*, 25: 133-149.

ASSIS, A. — 1948 — Shigella guanabara, tipo sorológico destacado do grupo B. ceylonensis-dispar. *O Hospital*, Rio de Janeiro, 33: 505-518.

BRAY, J. — 1945 — Isolation of antigenically homogeneous strains of *Bact. coli neapolitanum* from diarrhoea of infants. *J. Path. Bact.*, 57: 239-247.

CHABBERT, Y., F. BOYER, & M. DECHAVASSINE — 1953 — Détermination de la sensibilité microbienne aux sulfamides par un méthode de disques séchés. *Ann. Inst. Pasteur*, 85: 56-63.

CHARTER R. E. & J. TAYLOR — 1952 — Cultural and serological reactions of strains of *Bact. coli* isolated from babies. *J. Path. Bact.*, 64: 729-734.

CRAIGE, J. — 1931 — Studies on the serological reactions of the flagella of *B. typhosus*. *J. Immunol.*, 21: 417-511.

DE BEER, E. J. & M. B. SHERWOOD — 1945 — The paper-disc agar plate method for the assay of antibiotic substances. *J. Bact.*, 50: 459-467.

ERICSSON, H., C. HOGMAN & K. WICKMAN — 1954 — A paper disk method for determination of bacterial sensitivity to chemotherapeutic and antibiotic agents. *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 6 (supl. 11): 23-36.

EWING W. H., K. E. TANNES & H. W. TATUM — 1955 — A new serotype of *Escherichia coli* associated with infantile diarrhea. *Publ. Hlth. Rep.*, 70: 107-114.

FERGUSON, W. W. & B. C. JUNE — 1952 — Experiments on feeding adult volunteers with *Escherichia coli* 0111 B4, a coliform organism associated with infant diarrhea. *Amer. J. Hyg.*, 55: 155-169.

FRETER, R. — 1955 — The fatal enteric cholera infection in the guinea pig, achieved by inhibition of normal enteric flora. *J. Inf. Dis.*, 97: 57-65.

FRETER, R. — 1956 — Experimental enteric Shigella and Vibrio infections in mice and guinea pigs. *J. Exp. Med.*, 104: 411-418.

GERBEAUX, C. — 1955 — Milieu d'enrichissement et technique d'isolement des *E. coli* des gastro-entérites infantiles. *Ann. Inst. Pasteur*, 88: 790-793.

GILES C. & G. SANGSTER — 1948 — An outbreak of infantile gastro-enteritis in Aberdeen. *J. Hyg.*, 46: 1-9.

HARDY, A. V. & M. M. GALTON — 1955 — The role of food processing plants in the dissemination of *Salmonella*. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 4: 725-730.

HARDY, A. V. & J. WATT — 1944 — Newer procedures in laboratory diagnosis and therapy in the control of bacillary dysentery. *Amer. J. Pub. Health*, 34: 503-509.

HORMAECHE, E., C. A. PELUFFO & P. L. ALEPPO — 1936 — Nueva contibución al estudio etiológico de las "diarreas infantiles de verano". *Arch. urug. Med.*, 9: 113-162.

HUNTER, C. A. & B. COLBERT — 1956 — Flocculation tests for Brucellosis. *J. Immunol.* 77: 232-241.

KAUFFMANN, F. — 1954 — Enterobacteriaceae. Ejnar Munksgaard Publisher, Copenhagen.

KOYA, G., N. KOSAKAI, M. KONO, M. MORI & Y. FUKASAWA — 1954 — Observations on the multiplication of *Escherichia coli* 0-111 B4 in the intestinal tract of adult volunteers in feeding experiments. The intubation study with Miller-Abbott's double lumen tube. *Jap. J. med. Sci. Biol.*, 7: 197-204.

MAROJA, R. C. & W. D. LOWERY — 1956 — Eficácia relativa da coprocultura comparada ao swab-retal no isolamento de *Shigellas*. *Rev. Serv. Saúde públ.*, Rio de Janeiro, 8: 577-583.

MEDICAL RESEARCH COUNCIL — 1953 — Antibiotic and chemotherapeutic agents in the treatment of infantile diarrhoea and vomiting. *Lancet*, 2: 1163-1169.

NETER, E., L. F. BERTRAM, D. A. ZAK, M. R. MURDOCK & C. E. ARBESMAN — 1952 — Studies on hemagglutination and hemolysis by *Escherichia coli* antisera. *J. exp. Med.*, 96: 1-15.

NETER, E., N. J. ZALEWSKI & W. W. FERGUNSON — 1953 — *Escherichia coli* hemagglutinin response of adults volunteers to ingested *E. coli* 0 55 B5. *Proc. Soc. exp. Biol.*, N. Y., 82: 215-219.

NETER, E., O. WESTPHAL, O. LUDERITZ, M. R. GINO & A. E. GORZYNSKI — 1955 — Demonstration of antibodies against enteropathogenic *Escherichia coli* in sera of children of various ages. *Pediatrics*, 16: 801-808.

NOVAES, J. R. C., A. E. TAUNAY & S. S. ALMEIDA — 1949 — Tipagem de Salmonelas no Laboratório de Saúde Pública. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 9: 115-122.

OCKLITZ, H. W. & E. F. SCHMIDT — 1955 — Über das Vorkommen von Dyspepsie-Coli bei Erwachsenen. *Helvet. paediat. acta*, 10: 450-461.

ORSKOV, F. — 1951 — On the occurrence of *E. coli* belonging to O-group 26 in case of infantile diarrhoea and white scours. *Acta path. microbiol. scand.*, 29: 373-378.

PAYNE, A. M. M. & G. T. COOK — 1950 — A specific serological type of *Bact. coli* found in infants' home in absence of epidemic diarrhoea. *Brit. med. J.*, 2: 192-195.

RUGAI, E. — Informação pessoal.

STEVENSON, S. S. — 1952 — Further observation on the occurrence of *Bact. coli* D. 433 in adult faeces. *Brit. med. J.*, 2: 123-124.

TAUNAY, A. E. — 1951 — Bacteriologia das Shigeloses. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 11: 49-102.

TAUNAY, A. E., J. F. PONTES, E. PRADO & E. S. PEIXOTO — 1956 — Shigeloses. Comparação de método de colheita das fezes no diagnóstico bacteriológico das enterocolites crônicas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 16: 37-61.

TAUNAY, A. E., J. C. SOARES BICUDO, A. CORRÊA & E. S. PEIXOTO — 1956 — Estudo bacteriológico da diarreia do recém-nascido. *O Hospital*, Rio de Janeiro, 49: 625-634.

TAYLOR, J., B. W. POWELL & J. WRIGHT — 1949 — Infantile diarrhoea and vomiting. A clinical and bacteriological investigation. *Brit. med. J.*, 2: 117-125.

THOMAS, M. E. M. — 1954 — Disadvantages of the rectal swab in diagnosis of diarrhoea. *Brit. med. J.*, 2: 394-396.

CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO E A PROFILAXIA DA MOLÉSTIA DE CHAGAS NO ESTADO DE SÃO PAULO

DAVID CODA (*)

NICOLINO FALCI (**)

FRANCISCO AUGUSTO TEIXEIRA MENDES (***)

Os estudos e a profilaxia relativos à Moléstia de Chagas foram iniciados, oficialmente, em 1951, pelo Serviço de Profilaxia da Malária do Estado de São Paulo. De há muito, porém, grande número de trabalhos já tinham vindo a lume.

A presente publicação nada mais é do que a condensação de dados contidos no "Relatório" apresentado ao Excelentíssimo Senhor Governador do Estado e elaborado por sua ordem, conforme ato inserto no "Diário Oficial", de 18 de agosto de 1955, que designou uma comissão incumbida de estudar as medidas práticas de Profilaxia da Moléstia de Chagas e da Esquistossomose no Estado de São Paulo.

Foi graças à gentileza dos drs. Victor Homem de Mello e Renato de Robert Corrêa, respectivamente, diretor e chefe da Secção de Moléstias de Chagas, do Serviço de Profilaxia da Malária, que nos proporcionaram elementos necessários para atualizar os dados contidos no "Relatório", de maneira a podermos levar a efeito êste nosso empreendimento.

A finalidade dêste trabalho é divulgar a situação atual da endemia chagásica no nosso Estado e alertar as autoridades quanto

(*) Ex-médico do Serviço de Profilaxia da Malária.
Médico do Instituto Adolfo Lutz.

(**) Ex-médico do Serviço de Centros de Saúde da Capital.
Médico do Departamento de Profilaxia da Lepra.

(***) Ex-Diretor da Hospedaria de Imigrantes.
Ex-chefe do Serviço Médico de Imigração, da Secretaria da Agricultura.

Em 63 municípios (16,2%) desses 390, não foram encontrados triatomíneos nos domicílios (Relação n.º 2 — municípios onde foram realizadas pesquisas negativas de triatomíneos, 1950 a 1957).

Como vimos acima, 327 municípios do Estado estavam infestados por triatomíneos. Os exames dos espécimes revelaram que, em 225 deles (68,8%), êsses insetos se encontravam INFETADOS pelo *Trypanosoma cruzi*, parasita responsável pela Moléstia de Chagas (Relação n.º 3 — Municípios onde foram encontrados triatomíneos INFETADOS pelo *T. CRUZI* e as espécies examinadas 1950 a 1957).

Em 88 unidades (26,9%), os insetos NÃO ESTAVAM INFETADOS pelo *T. cruzi* (Relação n.º 4 — Municípios onde só foram encontrados triatomíneos NÃO INFETADOS pelo *T. cruzi* e as espécies examinadas, 1950 a 1957).

Em 14 municípios (4,3%), os triatomíneos capturados não foram examinados (Relação n.º 5 — Municípios onde os triatomíneos capturados não foram examinados e as espécies capturadas, 1950 a 1957).

Dêsses 14 municípios, somente em 5 os triatomíneos capturados apresentavam importância epidemiológica relacionada com a transmissão da moléstia; os demais insetos, recebidos dos restantes 9 municípios, careciam daquela importância por serem hemípteros de hábitos silvestres, por nunca serem encontrados naturalmente infetados pelo *T. cruzi* em domicílios ou por terem sido encontrados, apenas, infetados em abrigos de animais silvestres.

Na relação número seis (Relação n.º 6, Municípios onde NÃO foram realizadas pesquisas de triatomíneos, 1950 a 1957), damos os nomes desses municípios, especificando aqueles criados pela Lei 2.456, de 30 de dezembro de 1953, e seu papel epidemiológico relacionado com os municípios dos quais se originaram.

Para maior esclarecimento e conhecimento da posição epidemiológica da Moléstia de Chagas, apresentamos um quadro demonstrativo do ÍNDICE DE INFECÇÃO, por município. Êsses índices foram calculados sobre a soma de todos os triatomíneos examinados nos anos de 1950 a 1957.

Um estudo atento desses ÍNDICES, comparando-os com o número de insetos examinados, proporcionará seu verdadeiro valor epidemiológico.

Durante êsses 8 anos de trabalho, verificou-se que o maior transmissor da Moléstia de Chagas no Estado é o *T. infestans*

(Klug, 1834), que compareceu na proporção de 92,5% dos espécimes capturados.

Com relação aos índices de infecção, por espécies, verificamos que o *T. infestans* apresentou o índice de 9,4%, o *T. sordida*, 1,5% e o *P. megistus* 0,8%. As demais espécies, capturadas e examinadas no Estado, *R. neglectus*, *P. geniculatus*, *T. tibiamaculata*, *R. domesticus* e *P. diasi*, não se apresentaram infetadas.

O índice de infecção GLOBAL dos triatomíneos, para todo o Estado, em 8 anos, atingiu a 8,8% :

A distribuição geográfica dos triatomíneos, vectores da Moléstia de Chagas no Estado de São Paulo, por 327 municípios, dá uma perfeita visão da gravidade do problema e das dificuldades para sua profilaxia.

SOROLOGIA

As atividades oficiais, em larga escala, referentes ao diagnóstico sorológico da Moléstia de Chagas, datam de sete anos. Durante esse tempo, foram colhidas 65.789 amostras de sangue em 265 municípios do Estado, das quais 56.259 (85,5%) foram aproveitadas para a Reação de Machado & Guerreiro (método qualitativo; 6.690 amostras forneceram resultados POSITIVOS, evidenciando casos de Moléstia de Chagas e proporcionaram um índice de positividade de 11,8%.

Em 222 municípios os sangues colhidos ofereceram reações específicas POSITIVAS para a Moléstia de Chagas.

Em 35 municípios os sangues examinados forneceram reações sorológicas NEGATIVAS para a Moléstia de Chagas. Essa negatividade poderá ser transformada, com relação à presença de casos humanos de Moléstia de Chagas, em positividade com o decorrer do tempo, em virtude do prosseguimento da colheita de amostras em maior número.

Em 8 municípios, as reações sorológicas apresentaram resultados duvidosos; também nesse caso, torna-se necessário maior colheita de amostras de sangue para que os resultados se confirmem.

A título de informação acrescentamos que foram colhidas 6.175 amostras de sangue na Hospedaria de Imigrantes, em trabalhadores provindos de outros Estados, das quais 5.995 foram submetidas a exame sorológico, resultando 520 amostras positivas para Moléstia de Chagas, com um índice de positividade de 8,7%.

Foram ainda diagnosticados, parasitológicamente, 205 casos de Moléstia de Chagas, por meio de exames diretos, xenodiagnósticos e inoculação em animais de laboratório.

Êsses 205 casos foram diagnosticados em pessoas residentes nos municípios de: Água da Prata, Assis, Botucatu, Brotas, Cajuru, Cândido Mota, Cardoso, Fartura, Fernandópolis, Franca, Garça, Indiaporã, Itaporanga, Ituverava, José Bonifácio, Maracá, Monte Aprazível, Nova Aliança, Olímpia, Ourinhos, Palmital, Pedregulho, Piracicaba, Piraju, Rancharia, Ribeirão Preto, Rincão, São Carlos, São José do Rio Preto, Timburi e Votuporanga.

PROFILAXIA

Considerando que a Moléstia de Chagas é endêmica no Estado de São Paulo, fato comprovado pela presença de doentes e de vectores infetados pelo *T. cruzi*, ambos abundantemente disseminados pela maioria de seus municípios, e que a terapêutica tem sido ineficaz até a presente data, o que confere a essa entidade nosológica aspecto de suma gravidade, torna-se necessário agir com presteza e segurança no sentido de ERRADICAR o seu vector.

Para erradicar os vectores da Moléstia de Chagas, torna-se necessário orientar os trabalhos calcando-os na sua biologia e no valor residual dos inseticidas atualmente conhecidos e empregados, pelo que, propomos:

1.º — O inseticida BHC (1, 2, 3, 4, 5, 6 — Hexaclorociclohexano, Hexacloreto de benzeno, isômero gama), será aplicado em três ciclos anuais. O intervalo entre uma aplicação e a seguinte não poderá ser maior de três meses.

2.º — Aplicar-se-á o inseticida em proporção tal que o resíduo, por m², não seja inferior a um grama.

Até a presente data, no Estado, emprega-se o BHC à razão de 0,5 g por m² de superfície desinsetizável e em um só ciclo anual. Tal norma de trabalho não representa o ideal para exterminar êsses vectores, pois, sabemos por experiências realizadas no Serviço de Profilaxia da Malária, CORRÊA & SCHIAVI (1954), que, nessa dose residual, o inseticida provocou a morte, apenas, de 68,4% dos insetos, após quatro dias de contato, alcançando o máximo de letalidade, que foi de 82,4% após transcorridos onze dias. Deve-se notar que o inseto se comporta de modo diverso, em face do inseticida, segundo as fases do ciclo evolutivo, pois, as ninfas de 1.º, 2.º e 3.º estádios são menos resistentes do que as do 4.º e 5.º estádios e do inseto adulto, que resistem muito mais, recuperando-se dos efeitos tóxicos do inseticida em proporções bastante apreciáveis

CORRÊA & SCHIAVI (1954). Verificou-se, também, que o inseticida, após quinze dias de aplicação, não possui poder residual letal para exterminar todos os barbeiros, uma vez que, decorrido esse espaço de tempo, os insetos, postos em contato com a superfície tratada, morriam, apenas, na proporção aproximada de 18%. Assim, se considerarmos a hipótese de que uma só aplicação anual do inseticida destrói todos os insetos adultos e ninfas, o que na realidade não ocorre, restariam os ovos dos triatomíneos que, após eclodirem, restabeleceriam o ciclo vital, e *ipso facto*, novas gerações de vectores.

A evolução biológica de *T. infestans*, o maior vector da Moléstia de Chagas no Estado, se processa em aproximadamente, trezentos dias, a partir do ovo até o inseto adulto, com a agravante de que não é necessário que o inseto atinja o estado adulto para infetar-se e transmitir a moléstia ao homem, pois, desde o 1.º estágio, as ninfas já podem estar infetadas pelo *Trypanosoma cruzi*, agente causador da Moléstia de Chagas.

Justifica-se, pois, o emprêgo do BHC em três ciclos, BUSTAMANTE & GUSMÃO (1953), em aplicações anuais e na dose de um grama por m² de superfície desinsetizada, tentativa de erradicação dos vectores da Moléstia de Chagas.

Ainda com referência à escolha de inseticidas para o combate ao barbeiro, deve-se esclarecer que outros produtos, dotados de maior valor residual e poder letal, poderão reduzir o número de aplicações anuais, como no caso do Dieldrin.

3.º — Os municípios a serem desinsetizados, com a finalidade de ERRADICAÇÃO dos vectores da Moléstia de Chagas, serão escolhidos de acôrdo com os estudos realizados visando às condições epidemiológicas de cada um.

4.º — O número de municípios a serem desinsetizados, será determinado de acôrdo com as possibilidades orçamentárias.

A escolha dos municípios será feita obedecendo ao critério de maior índice de triatomíneos domiciliares. O município escolhido servirá de base, em cada região, para os trabalhos de desinsetização, que serão estendidos aos

municípios contíguos, de modo que a tentativa de ERRADICAÇÃO se processe do centro para a periferia. Com essa medida evitar-se-á, o mais possível, reinfestação dos municípios trabalhados, pelo transporte passivo do vector.

5.º — A aplicação do inseticida será precedida e sucedida de medidas de investigação e contrôle do inseto.

Antes da aplicação do inseticida proceder-se-á:

- a) à zonagem do município a ser tratado;
- b) ao cadastro de todos os prédios;
- c) à pesquisa rigorosa do inseto nos domicílios e seus anexos para comprovação de presença, densidade domiciliária e infecciosidade;
- d) educação das populações por intermédio de educadoras sanitárias, que instruirão os moradores, sôbre as características biológicas do inseto, sua ação nociva para o homem e os animais, e os métodos de combatê-lo. O combate ao inseto pelas populações incluirá o asseio geral e semanal das residências ou, pelo menos, quinzenalmente. Nessa limpeza serão revistadas gavetas, depósitos, colchões, malas, baús, caixas, etc., esconderijos possíveis de insetos e ovos que deverão ser mortos ou destruídos.

As educadoras deverão fazer sentir a utilidade de promover o reparo das casas, principalmente daquelas de barro e pau a pique, de modo que as paredes e assoalhos fiquem sem frestas; de substituir as coberturas de sapé por telhas de barro ou zinco; cuidar do assoalho das casas de modo a impedir a criação e refúgio dos insetos; cair as casas para melhor identificar a presença dos barbeiros, pela deposição das fezes nas paredes.

As educadoras deverão mostrar a conveniência de ser utilizada a melhor medida profilática, qual seja, a substituição das moradias de barro e pau a pique por casas de madeira ou alvenaria, construídas com requisitos capazes de impedir a presença do inseto; aconselhar os moradores a dormirem com cortinados, bem ajustados sob os colchões, de modo a impedir o ingresso dos triatomíneos nos leitões, bem como afastar as camas das paredes.

Deverão as educadoras instruir os moradores para que notifiquem a autoridade sanitária mais próxima ou, na falta desta, a autoridade municipal, toda vez que encontrarem barbeiros em seus domicílios.

Após aplicação do inseticida:

- a) realizar-se-ão novas pesquisas do inseto nos domicílios e anexos, a fim de avaliar o efeito proporcionado pelo inseticida;
- b) somente se considerará ERRADICADO o vector mediante a evidência de sucessivas pesquisas negativas, as quais, muito embora trabalhosas, demoradas e difíceis, precisam ser repetidas várias vezes;
- c) o município em que se considerar ERRADICADA a fauna triatomínica, ficará sob contróle permanente, sofrendo, pelo menos, uma pesquisa anual destinada a surpreender um possível reaparecimento do inseto, devido a falhas na aplicação do inseticida ou à importação de novos triatomíneos carreados nos pertences dos indivíduos que se movimentam dentro do Estado, de município para outro ou vindos de outros Estados.

6.º — Expurgo obrigatório da bagagem dos trabalhadores que passam pela Hospedaria de Imigrantes.

CONCLUSÕES

- 1.ª — É incontestável a gravidade da endemia chagásica no Estado de São Paulo, evidenciada pela presença de triatomíneos em 327 municípios, sendo que, em 225 desses municípios, os triatomíneos estavam INFETADOS pelo *T. cruzi*.
- 2.ª — A gravidade da moléstia, acentuada pela inexistência de terapêutica específica, exige providências urgentes de profilaxia.
- 3.ª — A profilaxia deverá ser orientada no sentido de ERRADICAÇÃO dos vectores, seguindo-se um plano de trabalho orientado pelas condições epidemiológicas.

RESUMO

Os AA. enumeram as espécies de triatomíneos encontrados, em 1957, no Estado de São Paulo, em 327 municípios, sendo que, em 225 desses municípios, os triatomíneos estavam infetados pelo

T. cruzi. As espécies são: *Panstrongylus diasi*, *P. geniculatus*, *P. megistus*, *Rhodnius domesticus*, *R. neglectus*, *Triatoma infestans*, *T. sordida*, *T. tibiamaculata*, *T. rubrofasciata* e *T. oswaldoi*. O *T. infestans* figura como maior vector, constituindo 92,6% dos vectores capturados. Informam que em 56.259 reações de Machado & Guerreiro, pelo método qualitativo, obtiveram 6.690 resultados positivos, apresentando um índice de positividade de 11,8%. Finalizam apresentando medidas profiláticas, que visam à ERRADICAÇÃO dos triatomíneos vectores da Moléstia de Chagas. Em princípio, a erradicação seria tentada usando o BHC: um grama por m² em três ciclos anuais de aplicação.

CONCLUSIONS

- 1 — The seriousness of chagasic endemy in the State of São Paulo, Brazil, is incontestable as shown by the presence of triatomas in 327 districts (counties). In 225 of those districts the bugs were found infected by *T. cruzi*.
- 2 — The seriousness of the disease, which is increased by the lack of specific therapeutics, demands immediate prophylactic measures.
- 3 — Prophylaxis should be carried out to eradicate the vectors, following a work plan in accordance with the epidemiological conditions.

SUMMARY

CONTRIBUTION FOR THE STUDY AND PROPHYLAXIS OF CHAGAS' DISEASE IN SÃO PAULO

In this paper the AA. report the number of species of insects found up to 1957, in the State of São Paulo, Brazil, in 327 districts. In 225 of those municipalities the bugs were found infected by *T. cruzi*.

The species found are: *Panstrongylus diasi*, *P. geniculatus*, *P. megistus*; *Rhodnius domesticus*, *R. neglectus*; *Triatoma infestans*, *T. sordida*, *T. tibiamaculata*, *T. rubrofasciata*, and *T. oswaldoi*. *T. infestans* acts as the main vector, this species being 92,5% of the total number caught. In 56.259 tests of Machado & Guerreiro, by the qualitative method, 6.690 were positive which gives a rate of positivity of 11,8%. It is suggested prophylactic measures that aim at the eradication of the bugs, vectors of Chagas' disease. In the beginning this eradication would be tried by the application of BHC at the rate of 1 g by square meter in three annual applications.

RELAÇÃO N.º 1

Municípios onde foram realizadas pesquisas positivas de triatomíneos e as espécies capturadas, 1950-1957

1 — Aguaí	— cid. * I.S. int.: I.S.	49 — Brodósqui	— cid.: M. int.: I.S.M.
2 — Águas da Prata	— cid.: M. int.: I.	50 — Brotas	— cid.: I. int.: I.M.
3 — Agudos	— cid.: I.S. int.: I.S.	51 — Buri	— cid.: I. int.: I.
4 — Alfredo Marcondes	— cid.: I. int.: I.	52 — Buritama	— int.: I.S.
5 — Altinópolis	— cid.: I.M. int.: I.S.M.N.	53 — Buritizal	— cid.: I.S.M. int.: I.S.M.
6 — Alto Alegre	— int.: S.	54 — Cabrália Paulista	— int.: I.
7 — Álvares Florence	— cid.: I. int.: I.S.	55 — Caconde	— cid.: I. int.: I.M.
8 — Álvares Machado	— int.: I.	56 — Cafelândia	— cid.: I.S.M. int.: I.
9 — Álvaro de Carvalho	— cid.: I.S. int.: I.S.	57 — Cajobi	— cid.: S. int.: I.S.
10 — Americana	— cid.: I. int.: I.	58 — Cajuru	— cid.: I. int.: I.S.M.O.N.
11 — Américo de Campos	— cid.: I. int.: I.S.	59 — Campinas	— cid.: M. int.: I.M.
12 — Analândia	— int.: I.M.	60 — Campos Novos Paulista	— cid.: I. int.: I.
13 — Andradina	— int.: N.	61 — Cândido Mota	— cid.: I.S. int.: I.S.
14 — Angatuba	— cid.: I. int.: I.	62 — Capão Bonito	— int.: I.
15 — Anhembi	— cid.: I. int.: I.	63 — Capivari	— cid.: I.
16 — Anhumas	— int.: I.	64 — Caraguatatuba	— cid.: G. int.: D.T.M.
17 — Araçatuba	— cid.: S. int.: I.S.	65 — Cardoso	— cid.: I.S. int.: I.S.
18 — Araçoiaba da Serra	— cid.: I. int.: I.	66 — Casa Branca	— cid.: I. int.: I.S.M.
19 — Araraquara	— int.: I.S.M.	67 — Castilho	— cid.: I. int.: I.S.M.
20 — Araras	— int.: I.	68 — Catanduva	— cid.: I.N. int.: I.S.
21 — Arealva	— cid.: I. int.: I.	69 — Cedral	— cid.: N. int.: I.S.N.
22 — Areias	— cid.: I. int.: I.		
23 — Ariranha	— int.: I.S.		

24 — Artur Nogueira	— cid.: I. int.: I.
25 — Assis	— cid.: I. int.: I.S.
26 — Atibaia	— cid.: I. int.: I.S.M.
27 — Auriflama	— int.: I.
28 — Avaí	— cid.: I. int.: I.
29 — Avanhandava	— int.: I.S.
30 — Avaré	— int.: I.
31 — Bálsamo	— cid.: I. int.: I.
32 — Bariri	— int.: I.S.
33 — Barra Bonita	— int.: S.
34 — Barretos	— cid.: I. int.: I.S.M.N.
35 — Barrinha	— cid.: I.S. int.: I.S.
36 — Batatais	— cid.: I.S.M. int.: I.S.M.
37 — Bauru	— int.: I.
38 — Bebedouro	— cid.: S. int.: I.S.M.N.
39 — Bernardino de Campos	— cid.: I. int.: I.
40 — Bilac	— int.: I.
41 — Boa Esperança do Sul	— int.: I.S.M.
42 — Bocaina	— cid.: I.
43 — Bofete	— cid.: I. int.: I.
44 — Boituva	— cid.: I. int.: I.
45 — Borborema	— int.: I.
46 — Botucatu	— cid.: I. int.: I.
47 — Bragança Paulista	— int.: I.
48 — Braúna	— int.: I.S.

70 — Cerqueira César	— cid.: I. int.: I.
71 — Cerquilha	— int.: I.
72 — Charqueada	— int.: I.
73 — Clementina	— int.: S.
74 — Colina	— cid.: S. int.: I.S.
75 — Conchal	— cid.: I. int.: I.
76 — Conchas	— cid.: S. int.: I.S.
77 — Coroados	— int.: S.
78 — Corumbataí	— int.: I.
79 — Cosmópolis	— cid.: I. int.: I.M.
80 — Cosmorama	— int.: I.S.
81 — Cravinhos	— int.: I.S.
82 — Cruzeiro	— int.: I.
83 — Descalvado	— int.: I.
84 — Divinolândia	— int.: I.
85 — Dois Córregos	— cid.: M. int.: I.M.
86 — Dourado	— int.: I.M.N.
87 — Dracena	— cid.: I. int.: I.
88 — Duartina	— cid.: I. int.: I.S.
89 — Echaporã	— cid.: I. int.: I.
90 — Estrela d'Oeste	— int.: I.S.
91 — Fartura	— cid.: I. int.: I.
92 — Fernando Prestes	— int.: I.S.M.
93 — Fernandópolis	— cid.: I.S. int.: I.S.
94 — Florínea	— cid.: I. int.: I.

(*) cid. — sede do município.
int. — interior do "

202 — Palestina — cid.: I.
int.: I.S.M.

203 — Palmital — cid.: I.S.
int.: I.S.

204 — Paraguaçu Paulista — cid.: I.
int.: I.

205 — Paraíso — int.: I.S.

206 — Paranapanema — cid.: I.
int.: I.

207 — Parapuã — cid.: I.S.
int.: I.

208 — Pariqueragu — int.: T.

209 — Patrocínio Paulista — cid.: I.M.
int.: I.M.

210 — Paulicéia — int.: I.

211 — Paulo de Faria — cid.: I.S.
int.: I.S.

212 — Pedregulho — cid.: I.S.M.
int.: I.S.M.N.

213 — Pedreira — int.: I.M.

214 — Penápolis — cid.: S.
int.: I.S.

215 — Pereira Barreto — int.: I.S.

216 — Pereiras — cid.: I.
int.: I.

217 — Piedade — int.: I.S.

218 — Pilar do Sul — int.: I.

219 — Pindorama — cid.: N.
int.: I.S.N.

220 — Pinhal — cid.: I.M.
int.: I.M.

221 — Piracicaba — cid.: M.
int.: I.

222 — Piraçununga — int.: I.

223 — Piraju — cid.: I.
int.: I.

224 — Pirajuf — int.: I.

225 — Pirangi — cid.: I.S.
int.: I.S.M.N.

226 — Pirapõzinho — cid.: I.
int.: I.

252 — Ribeirão Vermelho do Sul — cid.: I.
int.: I.

253 — Rifaina — cid.: I.S.Di.
int.: I.S.M.

254 — Rincão — cid.: I.
int.: I.S.

255 — Rinópolis — int.: I.

256 — Rio Claro — int.: I.

257 — Riolândia — int.: I.S.

258 — Sabino — int.: I.

259 — Sales de Oliveira — cid.: I.S.
int.: I.S.M.

260 — Salesópolis — int.: I.

261 — Salto Grande — cid.: I.
int.: I.S.

262 — Salto do Pirapora — cid.: I.
int.: I.

263 — Santa Adélia — int.: I.S.

264 — Santa Bárbara D'Oeste — int.: I.S.M.

265 — Santa Bárbara do Rio Pardo — cid.: I.
int.: I.S.

266 — Santa Cruz da Conceição — cid.: I.

267 — Santa Cruz das Palmeiras — int.: I.M.

268 — Santa Cruz do Rio Pardo — cid.: I.
int.: I.

269 — Santa Fé do Sul — cid.: S.
int.: I.S.

270 — Santa Isabel — int.: I.

271 — Santana do Parnaíba — int.: I.

272 — Santa Rita do Passa Quatro — cid.: I.
int.: I.S.M.

273 — Santa Rosa do Viterbo — int.: I.

274 — Santo Anastácio — int.: I.

275 — Santo Antônio da Alegria — cid.: I.
int.: I.S.M.

276 — Santo Antônio do Jardim — cid.: I.M.

277 — Santo Antônio da Posse — int.: I.M.

278 — Santos — int.: R.

279 — São Carlos — cid.: M.
int.: I.M.

304 — Taiuva	cid.: I. int.: I.S.
305 — Tambaú	cid.: I. int.: I.S.
306 — Tanabi	cid.: I. int.: I.S.
307 — Tapiratiba	cid.: I.S.M. int.: S.I.M.N.
308 — Taquaritinga	int.: I.S.
309 — Taquarituba	cid.: I. int.: I.
310 — Tatuí	cid.: I. int.: I.
311 — Terra Roxa	int.: I.S.
312 — Tieté	int.: I.
313 — Timburi	cid.: I. int.: J.
314 — Torrinha	int.: I.
315 — Tupã	cid.: I. int.: I.S.
316 — Tupi Paulista	int.: I.
317 — Ubatuba	int.: T.
318 — Ubirajara	cid.: I. int.: I.
319 — Uchoa	cid.: I.S. int.: I.S.
320 — Uru	int.: I.

321 — Urupês	cid.: I. int.: I.S.
322 — Valentim Gentil	cid.: I. int.: I.S.M.
323 — Vargem Grande do Sul	cid.: I.M. int.: I.N.
324 — Vera Cruz	cid.: I.S. int.: I.S.M.
325 — Viradouro	cid.: S. int.: I.S.
326 — Votuporanga	cid.: I.S. int.: I.S.M.
327 — Xavantes	int.: I.S.

ABREVIATURAS USADAS

Di. — <i>Panstrongylus diasi</i>
G. — <i>Panstrongylus geniculatus</i>
M. — <i>Panstrongylus megistus</i>
D. — <i>Rhodnius domesticus</i>
N. — <i>Rhodnius neglectus</i>
I. — <i>Triatoma infestans</i>
O. — <i>Triatoma oswaldoi</i>
R. — <i>Triatoma rubrofasciata</i>
S. — <i>Triatoma sordida</i>
T. — <i>Triatoma tibiamaculata</i>

RELAÇÃO N.º 2

MUNICÍPIOS ONDE FORAM REALIZADAS PESQUISAS NEGATIVAS DE TRIATOMÍNEOS

(1950 - 1957)

Adamantina, Águas de São Pedro, Amparo, Aparecida, Apiaí, Bananal, Barueri, Bastos, Bento de Abreu, Birigui, Brejuva, Caçapava, Cachoeira Paulista, Cananéia, Cordeirópolis, Cotia, Cubatão, Eldorado Paulista, Elias Fausto, Flórida Paulista, Guaimbé, Guararapes, Guaratinguetá, Guarulhos, Indiana, Iporanga, Itanhaém, Itapeverica da Serra, Itariri, Jacareí, Jacupiranga, Joanópolis, Junqueirópolis, Lorena, Mariápolis, Mi-

racatu, Mirandópolis, Natividade da Serra, Ouro Verde, Pacaembu, Panorama, Paraibuna, Pederneiras, Pedro de Toledo, Pindamonhangaba, Piqueroibi, Piracaia, Poá, Quatá, Redenção da Serra, Ribeira, Ribeirão Bonito, Ribeirão Branco, Rio das Pedras, Salto, Santa Gertrudes, São José do Barreiro, São José dos Campos, Suzano, Tabatinga, Taubaté, Valparaíso e Vinhedo.

RELAÇÃO N.º 3

MUNICÍPIOS ONDE FORAM ENCONTRADOS TRIATOMÍNEOS INFETADOS PELO *T. CRUZI* E AS ESPÉCIES EXAMINADAS

1950 - 1957

1 — Aguaí	— cid.: S	28 — Bernardino de Campos	— int.: I.
	int.: I.	29 — Boa Esperança do Sul	— int.: I.
2 — Agudos	— int.: I.	30 — Bofete	— cid.: I.
3 — Alfredo Marcondes	— int.: I.		int.: I.
4 — Altinópolis	— int.: I.S.M.	31 — Boituva	— int.: I.
5 — Alto Alegre	— int.: S.	32 — Botucatu	— cid.: I.
6 — Álvares Florence	— cid.: I.		int.: I.
	int.: I.S.	33 — Brotas	— cid.: I.
7 — Álvaro de Carvalho	— cid.: I.S.		int.: I.
	int.: I.	34 — Buri	— cid.: I.
8 — Américo de Campos	— cid.: I.		int.: I.
	int.: I.	35 — Buritama	— int.: I.
9 — Analândia	— int.: I.	36 — Buritizal	— int.: I.S.
10 — Angatuba	— cid.: I.	37 — Cabrália Paulista	— int.: I.
	int.: I.	38 — Caconde	— cid.: I.
11 — Anhembi	— cid.: I.		int.: I.
	int.: I.	39 — Cafelândia	— cid.: I.
12 — Araçatuba	— int.: I.	40 — Cajuru	— cid.: I.
13 — Araçoiaba da Serra	— cid.: I.		int.: I.S.M.N.
	int.: I.	41 — Campos Novos Paulista	— cid.: I.
14 — Araraquara	— int.: I.S.		int.: I.
15 — Araras	— int.: I.	42 — Cândido Mota	— cid.: I.
16 — Arealva	— cid.: I.		int.: I.S.
	int.: I.	43 — Cardoso	— int.: I.S.
17 — Artur Nogueira	— int.: I.	44 — Casa Branca	— int.: I.
18 — Assis	— cid.: I.	45 — Castilho	— int.: I.
	int.: I.	46 — Catanduva	— int.: I.S.
19 — Avaí	— int.: I.	47 — Cedral	— int.: I.
20 — Avanhandava	— int.: I.S.	48 — Cerqueira César	— cid.: I.
21 — Avaré	— int.: I.		int.: I.
22 — Bariri	— int.: I.	49 — Charqueada	— int.: I.
23 — Barretos	— int.: I.	50 — Conchal	— int.: I.
24 — Barrinha	— int.: S.	51 — Conchas	— int.: I.S.
25 — Batatais	— int.: I.S.	52 — Cosmópolis	— int.: I.
26 — Bauru	— int.: I.	53 — Cosmorama	— int.: I.
27 — Bebedouro	— int.: S.	54 — Cravinhos	— int.: I.

84 — Ipaçu — int.: I.
85 — Ipuã — cid.: I.
..... — int.: I.S.M.
86 — Irapuã — int.: I.
87 — Itaberá — cid.: I.
..... — int.: I.
88 — Itai — cid.: I.
..... — int.: I.
89 — Itajobi — int.: I.
90 — Itapetininga — int.: I.
91 — Itapeva — int.: I.
92 — Itapira — cid.: I.
..... — int.: I.
93 — Itápolis — int.: I.
94 — Itaporanga — cid.: I.
..... — int.: I.
95 — Itararé — cid.: I.
..... — int.: I.
96 — Itatinga — cid.: I.
..... — int.: I.
97 — Itirapina — int.: I.
98 — Itirapuã — cid.: I.
..... — int.: I.
99 — Ituverava — int.: I.S.M.
100 — Jaborandi — cid.: I.
..... — int.: I.S.
101 — Jales — int.: I.
102 — Jardinópolis — int.: I.S.M.
103 — José Bonifácio — int.: I.
104 — Júlio de Mesquita — cid.: I.
105 — Lavínea — int.: I.
106 — Leme — int.: I.
107 — Lençóis Paulista — int.: I.
108 — Limeira — int.: I.
109 — Lins — int.: I.
110 — Lucélia — int.: I.
111 — Lucianópolis — int.: I.
112 — Lupércio — cid.: I.
..... — int.: I.
113 — Lutécia — int.: I.

142 — Paulo de Faria — cid.: I.
..... — int.: I.S.
143 — Pedregulho — int.: I.S.M.
144 — Pereira Barreto — int.: I.
145 — Pereiras — int.: I.
146 — Piedade — int.: I.
147 — Pinhal — cid.: I.
..... — int.: I.
148 — Piracicaba — int.: I.
149 — Piraçununga — int.: I.
150 — Piraju — cid.: I.
..... — int.: I.
151 — Pirajuí — int.: I.
152 — Pirangi — cid.: I.S.
..... — int.: I.S.
153 — Pirapózinho — int.: I.
154 — Pitangueiras — cid.: I.S.
..... — int.: I.S.
155 — Planalto — int.: I.
156 — Platina — cid.: I.
..... — int.: I.
157 — Pompéia — cid.: S.
..... — int.: I.
158 — Pongai — int.: I.
159 — Pontal — int.: I.S.
160 — Porangaba — int.: I.
161 — Pôrto Feliz — int.: I.
162 — Pôrto Ferreira — cid.: I.
163 — Potirendaba — int.: I.S.
164 — Presidente Alves — int.: I.
165 — Presidente Bernardes — int.: I.
166 — Presidente Prudente — int.: I.
167 — Promissão — cid.: S.
..... — int.: S.
168 — Queluz — cid.: I.
..... — int.: I.
169 — Quintana — int.: I.
170 — Rancharia — int.: I.
171 — Regente Feijó — int.: I.
172 — Reginópolis — cid.: I.
..... — int.: I.

RELAÇÃO N.º 4

MUNICÍPIOS ONDE SÓ FORAM ENCONTRADOS TRIATOMÍNEOS NÃO INFETADOS PELO *T. CRUZI* E AS ESPÉCIES EXAMINADAS, 1950 - 1957

<p>1 — Águas da Prata — int.: I. 2 — Álvares Machado — int.: I. 3 — Americana — cid.: I. int.: I. 4 — Anhumas — int.: I. 5 — Areias — cid.: I. int.: I. 6 — Ariranha — int.: I. 7 — Atibaia — cid.: I. int.: I.S. 8 — Auriflama — int.: I. 9 — Bálamo — cid.: I. int.: I. 10 — Bilac — int.: I. 11 — Bocaina — cid.: I. 12 — Borborema — int.: I. 13 — Bragança Paulista — int.: I. 14 — Braúna — int.: I. 15 — Brodósqui — int.: I.S.M. 16 — Cajobi — int.: I.S. 17 — Campinas — int.: I.M. 18 — Capão Bonito — int.: I. 19 — Capivari — cid.: I. 20 — Cerquilha — int.: S. 21 — Clementina — cid.: S. int.: I. 22 — Colina — int.: I.S. 23 — Corumbataí — int.: I. 24 — Cruzeiro — int.: I. 25 — Dois Córregos — int.: I.M. 26 — Franco da Rocha — int.: I. 27 — Glicério — int.: S. 28 — Guaiçara — int.: S.</p>	<p>29 — Guapiagu — cid.: I. 30 — Guapiara — int.: I. 31 — Guariba — int.: I.S. 32 — Guararema — int.: I. 33 — Guarujá — int.: D. 34 — Ibaté — int.: I. 35 — Ibirá — cid.: I. int.: I. 36 — Icém — cid.: I.S. int.: I.S. 37 — Ilhabela — int.: M. 38 — Irapuru — int.: I. 39 — Itapuí — int.: I. 40 — Itu — int.: I. 41 — Jaboticabal — int.: I.S. 42 — Jaguariuna — int.: S. 43 — Jarinu — int.: I. 44 — Jaú — int.: I.M. 45 — Jundiá — int.: I. 46 — Juquiá — int.: M.D.T. 47 — Laranjal Paulista — int.: I. 48 — Lavrinhas — int.: I. 49 — Macatuba — int.: I. 50 — Magda — int.: I.S. 51 — Mineiros do Tietê — cid.: I. 52 — Mirassol — cid.: I. int.: I.S. 53 — Monte Alto — int.: I.S. 54 — Monte Azul Paulista — int.: S. 55 — Monte Mor — int.: I. 56 — Neves Paulista — cid.: S. int.: I.S. 57 — Nipua — cid.: I.</p>
---	---

58 — Orlandia	— cid.: I.S.	73 — Sabino	— int.: I.
	int.: I.S.M.N.	74 — Santo Anastácio	— int.: I.
59 — Osvaldo Cruz	— int.: I.	75 — Santa Cruz da Conceição	— cid.: I.
60 — Paraíso	— int.: I.	76 — Santa Isabel	— int.: I.
61 — Paulicéia	— int.: I.	77 — Santana do Parnaíba	— int.: I.
62 — Parapuã	— cid.: S.	78 — Santo Antônio do Jardim	— cid.: I.M.
	int.: I.	79 — Santo Antônio da Posse	— int.: I.M.
63 — Pedreira	— int.: I.M.	80 — Santos	— int.: R.
64 — Penápolis	— cid.: S.	81 — São Paulo	— int.: I.M.T.
	int.: I.S.	82 — Serrana	— cid.: I.S.N.
65 — Pilar do Sul	— int.: I.		int.: I.S.N.
66 — Pindorama	— int.: I.	83 — Severínea	— cid.: I.
67 — Piratininga	— int.: I.S.		int.: I.
68 — Poloni	— cid.: I.	84 — Silveiras	— int.: I.
	int.: I.	85 — Taquaritinga	— int.: I.S.
69 — Presidente Wenceslau	— int.: I.	86 — Terra Roxa	— int.: I.S.
70 — Ribeirão Vermelho	— cid.: I.	87 — Tupã	— cid.: I.
71 — Rio Claro	— int.: I.		int.: I.
72 — Riolândia	— int.: I.S.	88 — Uru	— int.: I.

RELAÇÃO N.º 5

MUNICÍPIOS ONDE OS TRIATOMÍNEOS CAPTURADOS NÃO FORAM EXAMINADOS E AS ESPÉCIES
CAPTURADAS, 1950 a 1957.

1 — Andradina	— int.: N.	7 — Pariqueraçu	— int.: T.
2 — Barra Bonita	— int.: S.	8 — Presidente Epitácio	— int.: G.
3 — Caraguatatuba	— cid.: G.	9 — Registro	— int.: D.
	int.: M.T.D.	10 — Salesópolis	— int.: I.
4 — Coroados	— int.: S.	11 — Santa Bárbara d'Oeste	— int.: S.M.
5 — Igarapu do Tietê	— int.: S.	12 — São Sebastião	— int.: G.S.
6 — Iguape	— int.: T.	13 — São Vicente	— int.: T.
		14 — Ubatuba	— int.: T.

RELAÇÃO N.º 6

MUNICÍPIOS ONDE NÃO FORAM REALIZADAS PESQUISAS DE TRIATOMÍNEOS, 1950 a 1957

Aguas de Lindóia, Balbinos (2), Caiabu (1), Caiuá (1), Campos do Jordão, Cunha, Ferraz de Vasconcelos (3), Flora Rica (3), Gastão Vidigal (2), Guaraçai, Igarabá (1), Indaiatuba, Itacemópolis (2), Itaju (2), Itaquaquecetuba (4), Itatiba, Jambuí, Lagoíinha (4), Marabá Paulista, Mauá (4), Mirante do Paranapanema (1), Moji das Cruzes, Monte Alegre do Sul, Monte Castelo (1), Monte Lobato, Murutinga do Sul (5), Nazaré Paulista, Nova Europa (3), Piacatu (2), Piquê, Ribeirão Pires (4), Rubiácea, Santa Branca, Santa Mercedes (1), Santo André, São Bento do Sapucaí, São Bernardo do Campo, São Caetano do Sul, São Luiz do Paraitinga, Serra Negra, Socorro, Sumaré (1), Taiaçu (2), Tremembé, Valinhos (1).

RELAÇÃO N.º 7

MUNICÍPIOS COM REAÇÃO DE MACHADO & GUERREIRO POSITIVAS 1951 a 1957

Adamantina, Aguai, Agudos, Álvares Florence, Álvares Machado, Américo de Campos, Amparo, Andradina, Angatuba, Anhembi, Apiaí, Araçatuba, Araçoiaba da Serra, Araras, Arealva, Ariranha, Artur Nogueira, Assis, Atibaia, Avaí, Avandava, Avaré, Bálamo, Barra Bonita, Bastos, Batatais, Bauru, Bento de Abreu, Bernardino de Campos, Bilac, Birigui, Bofete, Boituva, Borborema, Botucatu, Bragança Paulista, Brotas, Buritama, Cabrália Paulista, Caconde, Cafelândia, Cajobi, Campinas, Campos Novos Paulistas, Cananéia, Cândido Mota, Capão Bonito, Cardoso, Casa Branca, Catanduva, Cedral, Cerqueira Cesar, Cerquilha, Conchal, Conchas, Cosmópolis, Cosmorama, Descalvado, Dois Córregos, Dracena, Duartina, Echaporã, Estrêla d'Oeste, Fartura, Fernando Prestes, Fernandópolis, Flórida Paulista, Gália, Garça, General Salgado, Getulina, Guapiara, Guaraçai, Guaraci, Guararema, Guarujá, Herculândia, Iacanga, Ibirá, Ibirarema, Ibitinga, Ibiuna, Iepê, Indaiatuba, Indiana, Ipaçu, Irapuá, Itaberá, Itai, Itajobi, Itapetininga, Itapeva, Itapira, Itápolis, Itaporanga, Itararé, Itatiba, Itatinga, Itirapuá, Itu, Jales, José Bonifácio, Júlio de Mesquita, Laranjal Paulista, Lavínia, Leme, Lençóis, Paulista, Limeira, Lins, Lucélia, Macauba, Manduri, Maracá, Marília, Martinópolis, Matão, Mirandópolis, Mirassol, Mococa, Moji-Guaçu, Moji-Mirim, Monte Alto, Monte Aparaí, Monte Azul Paulista, Neves, Nhandeara, Nova Aliança, Nova Granada, Novo Horizonte, Óleo, Olímpia, Oriente, Oscar Bressane, Ourinhos, Ouro Verde, Pacaembu, Palestina, Palmital, Paraguaçu Paulista, Paraíso, Paranapanema, Paulicéia, Paulo de Faria, Pedregulho, Penápolis, Pereira Barreto, Piedade, Pilar do Sul, Pinhal, Piquerobi, Piracicaba, Piraju, Pirajui, Pirangi, Pirapózzinho, Pitangueiras, Pompéia, Pongai, Porangaba, Pôrto Feliz, Pôrto Ferreira, Potirendaba, Presidente Alves, Presidente Bernardes, Presidente Epitácio, Presidente Venceslau, Promissão, Quatá, Queluz, Quintana, Rancharia, Regente Feijó, Reginópolis, Ribeirão Branco, Ribeirão Preto, Rifaina, Rincão, Rinópolis, Rio Claro, Rubiácea, Salto, Salto Grande, Santa Adélia, Santa Bárbara do Rio Pardo, Santa Cruz das Palmeiras, Santa Fé do Sul, Santa Mercedes, Santa Rita do Passa Quatro, Santana do Parnaíba, Santo Anastácio, Santos, São Carlos, São

- (1) Municípios criados pela Lei 2.456, de 30-12-53, desmembrados de municípios com triatomíneos *não infetados*.
- (2) Municípios criados pela Lei 2.456, de 30-12-53, desmembrados de municípios com triatomíneos *infetados*.
- (3) Municípios criados pela Lei 2.456, desmembrados de municípios onde as pesquisas de triatomíneos vetores da moléstia de Chagas foram negativas.
- (4) Municípios criados pela Lei 2.456, de 30-12-53, desmembrados de municípios *não pesquisados*.
- (5) Municípios criados pela Lei 2.456, de 30-12-53, desmembrados de municípios com triatomíneos *não examinados*.

João da Boa Vista, São José do Rio Pardo, São Manoel, São Miguel Arcanjo, São Paulo, São Pedro, São Pedro do Turvo, São Roque, São Sebastião da Gramma, Sarapuá, Severínea, Sorocaba, Tabapuá, Tabatinga, Tambaú, Tanabi, Tapiratiba, Taquarituba, Taquaritinga, Tatuí, Tietê, Timburi, Torrinha, Tupã, Urupês, Valentim Gentil, Valparaíso, Vargem Grande do Sul, Vera Cruz e Votuporanga.

RELAÇÃO N.º 8

MUNICÍPIOS COM REAÇÃO DE MACHADO & GUERREIRO DUVIDOSA,
1951 a 1957

Águas da Prata, Aparecida, Cabreúva, Cachoeira Paulista, Capivari, Caragatatuba, Coroados, Cruzeiro, Dracena, Franca, Guarantã, Jacareí, Jarinu, Joanópolis, Jundiá, Junqueirópolis, Mairiporã, Monte Mor, Nazaré Paulista, Osvaldo Cruz, Panorama, Parapuá, Paulicéia, Pederneiras, Pindorama, Piracaia, Presidente Prudente, Ribeira, Santa Bárbara d'Oeste, Santa Cruz do Rio Pardo, São Vicente, Tatuí, Uchoa, Uru e Xavantes.

RELAÇÃO N.º 9

MUNICÍPIOS COM REAÇÃO DE MACHADO & GUERREIRO DUVIDOSA.
1951 a 1957

Alvaro de Carvalho, Areias, Cotia, Elias Fausto, Glicério, Guararapes, Piratinga e São Bento do Sapucaí.

QUADRO N.º 1

ÍNDICE DE INFEÇÃO, POR MUNICÍPIO, 1950-1957

N.º	MUNICÍPIO	Triatomíneos — Todas as espécies			
		Capturados	Examinados	Positivos p/ <i>T. Cruzii</i>	Índice de infecção
1	Aguai	211	62	1	1,6
2	Águas da Prata	15	8	0	0,0
3	Agudos	419	413	111	26,9
4	Alfredo Marcondes	234	202	32	15,5
5	Altinópolis	1.499	1.175	44	3,7
6	Alto Alegre	70	70	8	11,4
7	Álvares Florence	1.340	1.319	135	10,2
8	Álvaro de Carvalho	58	52	3	5,7
9	Álvares Machado	38	27	0	0,0
10	Americana	6	3	0	0,0
11	Américo de Campos	2.743	1.206	58	4,8
12	Augatuba	813	744	158	21,2
13	Anhembi	295	274	21	7,6
14	Anhumas	38	15	0	0,0
15	Araçatuba	77	54	3	5,5
16	Araçoiaba da Serra	2.452	1.812	340	18,7
17	Araraquara	338	239	17	7,1
18	Araras	4.037	427	16	3,7
19	Arealva	175	163	13	7,9
20	Areias	261	179	0	0,0
21	Ariranha	2	2	0	0,0
22	Arthur Nogueira	1.909	594	14	2,3

(Continua)

QUADRO N. 1 — (Continuação)

N.º	MUNICÍPIO	Triatomíneos — Tôdas as espécies			
		Captu- rados	Exami- nados	Positivos p/ <i>T. Cruzii</i>	Índice de infecção
23	Assis	2.678	2.043	169	8,2
24	Atibaia	661	274	0	0,0
25	Auriflama	18	18	0	0,0
26	Avai	85	67	4	5,9
27	Avanhandava	178	167	19	11,4
28	Avaré	921	784	94	12,4
29	Balsamo	1	1	0	0,0
30	Bariri	295	152	2	1,3
31	Barretos	853	706	43	6,0
32	Barrinha	553	351	1	0,2
33	Batatais	963	747	17	2,2
34	Bauru	229	225	16	7,1
35	Bernardino de Campos	492	465	78	16,7
36	Bilac	1	1	0	0,0
37	Boa Esperança do Sul	456	260	8	3,0
38	Bofete	1.354	1.054	77	7,3
39	Boituva	398	353	98	27,2
40	Borborema	2	2	0	0,0
41	Botucatu	1.295	984	84	8,5
42	Bragança Paulista	493	195	0	0,0
43	Braúna	5	5	0	0,0
44	Brodósqui	12	12	0	0,0
45	Brotas	1.298	660	104	15,8
46	Buri	322	200	99	49,5
47	Buritama	118	92	12	13,0
48	Buritizal	261	243	6	2,4
49	Cabrália Paulista	56	48	4	8,3
50	Caconde	4.289	1.960	182	9,2
51	Cafelândia	72	72	1	1,3
52	Cajobi	32	26	0	0,0
53	Cajuru	4.149	3.285	458	13,9
54	Campinas	110	83	0	0,0
55	Campos Novos Paulista	644	247	17	6,8
56	Cândido Mota	14.712	8.826	782	8,8
57	Capão Bonito	23	20	0	0,0
58	Capivari	1	1	0	0,0
59	Cardoso	1.916	1.634	255	15,6
60	Casa Branca	1.236	543	24	4,4
61	Castilho	1	1	0	0,0
62	Catanduva	18	15	1	6,7
63	Cedral	120	106	7	6,6
64	Cherqueira César	1.106	251	8	3,2
64a	Charqueada	137	125	1	0,8
65	Cerquillo	14	13	0	0,0
65a	Clementina	35	12	0	0,0
66	Colina	71	51	0	0,0
67	Conchal	619	116	2	1,7
68	Conchas	143	113	15	13,3
69	Cosmópolis	601	292	2	0,7
70	Cosmorama	962	962	47	4,8
71	Cravinhos	192	190	8	4,2
72	Cruzeiro	2	2	0	0,0

(Continua)

QUADRO N. 1 — (Continuação)

N.º	MUNICÍPIO	Triatomíneos — Tôdas as espécies			
		Captu- rados	Exami- nados	Positivos p/ <i>T. Cruzii</i>	Índice de infecção
73	Descalvado	2.348	984	405	41,1
73a	Divinolândia	145	99	0	0,0
74	Dois Córregos	1.246	85	0	0,0
75	Dourado	222	30	2	6,7
76	Dracena	48	48	6	12,5
77	Duartina	420	380	88	20,5
78	Echaporã	1.465	695	62	8,9
79	Estréla d'Oeste	264	262	8	3,3
80	Fartura	1.104	423	62	14,7
81	Fernandópolis	828	800	70	8,7
82	Florínea	487	487	129	26,4
83	Franca	747	397	78	19,6
84	Gália	291	289	7	2,4
85	Garça	4.319	3.568	339	9,5
86	General Salgado	432	303	8	2,6
87	Getulina	144	141	7	5,0
88	Glicério	20	2	0	0,0
89	Guaçara	3	3	0	0,0
90	Guaira	1.444	1.053	48	4,5
91	Guapiara	50	50	0	0,0
92	Guará	2.592	1.907	15	0,7
93	Guaraci	321	318	47	14,7
94	Guarantã	5	5	2	40,0
95	Guararema	148	89	0	0,0
96	Guareí	2.105	1.781	431	24,2
97	Guariba	40	39	0	0,0
98	Herculândia	19	19	2	10,5
99	Iacanga	623	497	14	2,8
100	Ibirá	74	66	0	0,0
101	Ibirarema	1.526	775	63	8,1
102	Ibitinga	219	163	2	1,2
103	Ibiúna	115	86	8	9,3
104	Icém	5	5	0	0,0
105	Iepé	13.707	6.798	593	8,7
106	Igarapava	2.730	2.260	28	1,2
107	Ihabela	21	1	0	0,0
108	Indiaporã	549	549	39	7,1
109	Ipauçu	56	19	5	26,3
110	Ipuã	1.817	1.053	8	0,7
111	Irapuã	356	239	9	3,7
112	Irapuru	2	1	0	0,0
113	Itaberá	4.694	2.940	281	9,5
114	Itaí	538	306	49	16,0
115	Itajobi	332	210	13	6,2
116	Itapetininga	382	377	23	6,1
117	Itapeva	413	230	17	7,3
118	Itapira	2.519	1.154	11	0,9
119	Itaporanga	11.062	6.689	1.331	19,8
120	Itapuí	107	17	0	0,0
121	Itararé	5.779	3.827	393	10,2
122	Itatinga	698	569	35	6,2
123	Itirapina	198	77	4	5,2

(Continua.)

QUADRO N. 1 — (Continuação)

N.º	MUNICÍPIO	Triatomíneos — Tódas as espécies			
		Captu- rados	Exami- nados	Positivos p/ <i>T. Cruzii</i>	Índice de infecção
124	Itirapuã	418	234	34	14,5
125	Itu	27	22	0	0,0
126	Ituverava	1.907	1.192	167	14,0
127	Jaborandi	49	49	1	2,0
128	Jaboticabal	18	13	0	0,0
129	Jaguariuna	1	1	0	0,0
130	Jales	264	256	31	12,1
131	Jardinópolis	389	333	1	0,3
132	Jarinu	198	116	0	0,0
133	José Bonifácio	46	46	6	13,0
134	Júlio Mesquita	33	33	1	3,0
135	Jundiá	3	1	0	0,0
136	Laranjal Paulista	136	92	0	0,0
137	Lavinia	92	61	1	1,6
138	Lavrinhas	42	25	0	0,0
139	Leme	289	289	2	0,7
140	Lençóis Paulista	12	12	1	8,3
141	Limeira	1.350	756	44	5,8
142	Lins	6	5	4	80,0
143	Lucélia	54	54	4	9,2
144	Lucianópolis	29	27	2	7,4
145	Lupércio	90	90	10	11,1
146	Lutécia	213	66	10	15,2
147	Macatuba	18	18	0	0,0
148	Macaubal	215	207	10	4,8
149	Mairiporã	102	34	1	2,9
150	Manduri	507	376	10	2,7
151	Maracá	3.434	2.560	292	11,4
152	Marília	6.059	5.465	561	10,2
153	Martinópolis	86	64	4	6,2
154	Miguelópolis	10.921	4.777	592	13,5
155	Mineiros do Tietê	1	1	0	0,0
156	Mirassol	28	26	0	0,0
157	Mococa	1.183	587	30	5,1
158	Moji-Guaçu	5.029	2.006	22	1,0
159	Moji-Mirim	1.930	230	9	3,9
160	Monte Alto	8	8	0	0,0
161	Monte Aprazível	143	112	2	1,7
162	Monte Azul Paulista	1	1	0	0,0
163	Morro Agudo	4.877	3.542	204	5,7
164	Neves Paulista	9	9	0	0,0
165	Nhandeara	329	317	20	6,3
166	Nipua	2	2	0	0,0
167	Nova Aliança	476	311	34	10,9
168	Nova Granada	228	219	9	4,1
169	Novo Horizonte	396	279	13	4,6
170	Nuporanga	1.168	817	6	0,7
171	Óleo	1.528	642	48	7,5
172	Olímpia	975	775	87	11,2
173	Oriente	172	168	13	7,7
174	Oriândia	62	12	0	0,0
175	Oscar Bressane	506	192	6	3,1

(Continua)

QUADRO N. 1 — (Continuação)

N.º	MUNICÍPIO	Triatomíneos — Todas as espécies			
		Captu- rados	Exami- nados	Positivos p/ <i>T. Cruz</i>	Índice de infecção
176	Osvaldo Cruz	47	32	0	0,0
177	Ourinhos	5.285	3.215	170	5,2
178	Palestina	486	385	60	15,6
179	Palmital	4.906	2.915	186	6,3
180	Paraguaçu Paulista	2.244	1.400	122	8,7
181	Paraíso	2	2	0	0,0
182	Paranapanema	737	537	87	14,3
183	Parapuã	13	13	0	0,0
184	Patrocínio Paulista	297	183	13	7,1
185	Paulicéia	1	1	0	0,0
186	Paulo de Faria	1.608	1.606	78	4,9
187	Pedregulho	1.332	734	21	2,8
188	Pedreira	2	1	0	0,0
189	Penápolis	30	29	0	0,0
190	Pereira Barreto	1.160	920	65	7,0
191	Pereiras	41	26	1	3,8
192	Piedade	120	105	3	2,8
193	Pilar do Sul	18	18	0	0,0
194	Pindorama	5	3	0	0,0
195	Pinhal	1.240	442	3	0,6
196	Piracicaba	572	370	7	1,8
197	Piraçununga	404	267	31	11,6
198	Piraju	1.757	923	131	14,2
199	Pirajuí	72	72	2	2,7
200	Pirangi	185	168	32	19,0
201	Pirapozinho	475	378	27	7,1
202	Piratininga	12	11	0	0,0
203	Pitangueiras	306	120	6	5,0
204	Planalto	268	268	8	2,9
205	Platina	254	237	24	10,1
206	Poloni	6	6	0	0,0
207	Pompéia	88	65	2	3,1
208	Pongaí	380	380	15	3,9
209	Pontal	832	631	14	2,2
210	Porangaba	462	426	65	15,3
211	Pôrto Feliz	1.294	1.258	102	8,1
212	Pôrto Ferreira	2.379	506	23	4,5
213	Potirendaba	238	206	7	3,4
214	Presidente Alves	149	149	16	10,7
215	Presidente Bernardes	475	320	22	6,9
216	Presidente Prudente	110	80	10	12,5
217	Presidente Wenceslau	1	1	0	0,0
218	Promissão	143	108	8	7,4
219	Queluz	1.223	1.109	205	18,3
220	Quintana	126	126	8	6,3
221	Rancharia	386	245	28	11,4
222	Regente Feijó	10	5	3	60,0
223	Reginópolis	224	220	22	10,0
224	Ribeirão Preto	1.361	788	10	1,2
225	Ribeirão Vermelho	21	3	0	0,0
226	Rifaina	508	415	28	6,7
227	Rincão	204	107	2	1,8

(Continua)

QUADRO N. 1 — (Continuação)

N.º	MUNICÍPIO	Triatomíneos — Tódas as espécies			
		Captu- rados	Exami- nados	Positivos p/ <i>T. Cruzi</i>	Índice de infecção
228	Rinópolis	258	194	4	2,0
229	Rio Claro	123	17	0	0,0
230	Riolândia	54	54	0	0,0
231	Sabino	7	7	0	0,0
232	Sales de Oliveira	2.369	1.521	12	0,7
233	Salto Grande	5.808	3.790	426	11,2
234	Salto de Pirapora	93	92	20	2,1
235	Santa Adélia	125	89	17	19,1
236	Santa Bárbara do Rio Pardo	1.280	592	63	10,6
237	Santa Cruz das Palmeiras ..	517	132	7	5,3
238	Santa Cruz do Rio Pardo ..	1.404	753	86	11,4
239	Santa Fé do Sul	685	684	17	2,4
240	Santa Izabel	27	21	0	0,0
241	Santa Rita do Passa Quatro	513	346	1	0,2
242	Santa Rosa do Viterbo	125	87	8	9,1
243	Santana do Parnaíba	238	159	0	0,0
244	Santo Anastácio	13	6	0	0,0
245	Santo Antônio da Alegria ..	1.942	1.353	64	4,7
246	Santo Antônio da Posse	25	9	0	0,0
247	São Carlos	1.081	612	9	1,4
248	São João da Boa Vista	1.840	244	5	2,0
249	São Joaquim da Barra	4.080	2.869	45	1,5
250	São José da Bela Vista	310	270	2	0,7
251	São José do Rio Pardo	3.462	1.593	133	8,3
251a	São José do Rio Preto	35	35	1	2,8
252	São Manoel	327	184	30	16,3
253	São Miguel Arcanjo	176	132	14	10,6
254	São Paulo	7	1	0	0,0
255	São Pedro	7.870	966	48	4,9
256	São Pedro do Turvo	1.876	1.111	78	7,0
257	São Roque	665	635	58	9,1
258	São Sebastião da Gramma ...	966	211	2	0,9
259	São Simão	480	112	3	2,6
260	Sarapuá	1.164	1.003	183	18,2
261	Serra Azul	37	28	2	7,1
262	Serrana	219	53	0	0,0
263	Sertãozinho	383	342	1	0,2
264	Severínea	5	3	0	0,0
265	Silveiras	10	7	0	0,0
266	Sorocaba	1.439	1.302	129	9,9
267	Tabapuã	134	104	2	1,9
268	Taciba	385	230	49	21,1
269	Tambaú	6.599	2.689	114	4,2
270	Tanabi	547	490	30	6,1
271	Tapiratiba	2.015	1.137	38	3,3
272	Taquaritinga	13	13	0	0,0
273	Taquarituba	579	528	91	17,2
274	Tatuf	1.080	321	100	12,1
275	Terra Roxa	5	2	0	0,0
276	Tietê	120	99	8	8,1
277	Timburi	1.486	324	32	9,9
278	Torrinha	165	29	1	3,4

(Continua)

QUADRO N. 1 — (Continuação)

N.º	MUNICÍPIO	Triatomíneos — Tôdas as espécies			
		Captu- rados	Exami- nados	Positivos p/ <i>T. cruzi</i>	Índice de infecção
279	Tupã	125	112	0	0,0
280	Tupi Paulista	153	72	2	2,7
281	Ubirajara	261	255	8	3,1
282	Uchoa	429	386	4	1,0
283	Uru	74	74	0	0,0
284	Urupês	98	69	2	2,9
285	Valentim Gentil	376	360	13	3,6
286	Vargem Grande do Sul	1.861	826	3	0,3
287	Vera Cruz	1.490	1.152	83	7,2
288	Votuporanga	3.020	2.493	185	7,4
289	Xavantes	602	420	53	12,6
		276.225	165.629	14.706	

BIBLIOGRAFIA

ALMEIDA, J. O., J. L. PEDREIRAS DE FREITAS & H. BRANDÃO — 1954 — Complement fixation test with a triple antigen for syphilis, tuberculosis, leprosy or Chagas' disease in blood banks. *Amer. J. Trop. Med.*, 3: 490-494.

ALMEIDA, J. O. — 1949 — O tempo de hemólise nas reações de fixação do complemento. Relações quantitativas entre tempo de hemólise e concentração de complemento no sistema hemolítico anti-carneiro. *Rev. brasil. Biol.*, 9: 249-260.

ALVES, U. P. & F. PINTO ALVES — 1951 — A moléstia de Chagas no município de Laranjal Paulista, Estado de São Paulo. Nota sobre a epidemiologia e profilaxia. Anais do IX Congresso brasileiro de Higiene, Porto Alegre, págs. 334-341.

AMARAL, J. P. & A. A. AGUIAR — 1950 — Reações de precipitina em alguns culicíidas. *Mem. Inst. Butantan*, 22: 205-211.

AMARAL, R. F. — 1955 — Moléstia de Chagas (Contribuição do laboratório para sua profilaxia nos bancos de sangue). *Imprensa médica*, Lisboa, Junho, 19: 1-8.

AMATO NETO, V. & L. H. PEREIRA DA SILVA — 1954 — Anticorpos heterófilos na doença de Chagas. Resultados obtidos em casos agudos e crônicos. *Hospital*, Rio de Janeiro, 45: 159-169.

ARANTES, J. B. — 1931 — Estudos parasitológicos. I — Do comportamento do *Trypanosoma cruzi* no *Silenus rhesus*. *Mem. Inst. Butantan*, 6: 233-235.

ARANTES, J. B. & F. FONSECA — 1935 — Sobre a possível sinonímia de *Trypanosoma manguinhense* Arantes et Fonseca, 1931 e *trypanosoma florestali* Romãña, 1931. *Mem. Instituto Butantan*, 10: 63-64.

AUTUORI, M. — 1932 — Contribuição para o estudo biológico do *Eutritoma flavida* (Neiva). *Rev. entomol.*, 2: 269-275.

BARROS, N. V. — 1938 — Pesquisas sobre a moléstia de Chagas em São Paulo: I — Índice de infestação de Triatomas e infecção natural de cão pelo *Trypanosoma cruzi* no município de Franca. *Rev. Biol. Hig.*, 9: 97-100.

BARROS, L. C. — 1948 — Estudo clínico do aparelho cárdio-vascular no período terciário da tripanosomose americana. *Rev. Hosp. Clin.*, 3: 155-182.

BARROS, O. M. & D. P. NOGUEIRA — 1951 — Caso agudo de Moléstia de Chagas: tratamento com nova droga. *Rev. clín. São Paulo*, 27: 79-86.

BIANCALANA, A., J. L. PEDREIRA DE FREITAS, V. AMATO NETO, V. NUSSENZWEIG & R. SONNTAG — 1953 — Investigações sorológicas sobre doerça de Chagas entre candidatos a doadores em Banco de Sangue nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. *Hospital*, Rio de Janeiro, 44: 745-749.

BIER, O. & E. TRAPP — 1943 — Sôbre a ordem de fixação dos diferentes componentes do complemento ao complexo antígeno anticorpo. *Rev. bras. Biol.*, 3: 331-336.

BIER, O. G. — 1930 — Contribuição para o conhecimento da distribuição de anticorpos no organismo do coelho. *Brasil-méd.*, 44: 812-814.

BLÁSQUEZ, J. & C. BIANCHINI — 1955 — Intoxicación crónica ocupacional por Dieldrin en el hombre. Dirección de Salud Pública, Ministerio de Sanidad y Asistencia Social, Maracay, Aragua, Venezuela.

BUSTAMANTE, F. M. — 1954 — Estado atual do programa contra a doença de Chagas. *An. Cated. Hig.*, Rio de Janeiro, 1: 41-46.

BUSTAMANTE, F. M. & G. J. GUSMÃO — 1953 — Sôbre a possibilidade de erradicação do *Triatoma infestans* com duas ou três aplicações domiciliares de BHC. Resultado de uma prova de campo. XI Congresso brasileiro de Higiene, Curitiba.

BUSVINE, J. R. & R. NASH — 1953 — The potency and persistence of some new synthetic insecticides. *Bull. ent. Res.*, 44: 371-376.

CAMPOS, E. S. — 1928 — Transmissão intrauterina do *Trypanosoma cruzi* na infecção experimental do cão. *An. Fac. Med. S. Paulo*, 3: 35-39.

CAMPOS, E. S. — 1929 — Estudo sôbre a anatomia patológica do gânglio linfático na tripanossomiase americana experimental. Alterações do sistema retículo-endotelial. Corpos intranucleares. Mielopoiese. *An. Fac. Med. S. Paulo*, 4: 75-90.

CAMPOS, E. S. & P. T. ARTIGAS — 1932 — Alterações do pulmão na tripanossomiase americana experimental e contribuição para o estudo da natureza das células fagocitárias do pulmão. *An. Fac. Med. S. Paulo*, 7: 95-115.

CAMPOS, E. S. — 1927 — Estudos sôbre uma raça neurotrópica do *Trypanosoma cruzi*. *An. Fac. Med. S. Paulo*, 2: 197-201.

CAMPOS, E. S. & F. P. ALMEIDA — 1928 — Estudo da Histopatologia do rim na tripanossomiase americana (moléstia de Chagas) experimental. *An. Fac. Med. S. Paulo*, 3: 41-46.

CAMPOS, J. A. — 1945 — Intradermo-reação de Montenegro precoce. *Arq. Hig. Saúde púb.*, 10: 43-46.

CAMPOS, R., V. AMATO NETO, L. H. PEREIRA DA SILVA & M. AWAZÚ — 1953 — Nota sôbre o encontro de triatomídeos não infetados no Município de Franco da Rocha (Estado de São Paulo). *Rev. clín. São Paulo*, 29: 121-123.

CARDOSO, F. A. — 1938 — Sur le mécanisme de la transmission de la maladie de Chagas. *Ann. parasitol*, 16: 341-349.

CARDOSO, F. A. & G. ROSENFELD — 1940 — Moléstia de Chagas no Estado de São Paulo. *Rev. clín. São Paulo*, 7: 155-173.

CARDOSO, F. A. & E. NAVAJAS — 1941 — Achado de dois cães naturalmente infetados pelo *Trypanosoma cruzi*, 1909, no município de Itaporanga, Estado de São Paulo. Presença na mesma localidade de *Triatoma infestans* (Klug, 1834) infestado pelo *T. cruzi*. *Rev. clín. São Paulo*, 9: 179-187.

CARDOSO, F. A., E. NAVAJAS & J. ALVES DOS SANTOS — 1941 — Dois casos de forma aguda de moléstia de Chagas, encontrados no município de Itaporanga, Estado de São Paulo. *Rev. clin. São Paulo*, 10: 50-53.

CARINI, A. & J. MACIEL — 1914 — Distribution des Triatomes dans l'État de São Paulo. *Bull. Soc. Path. exot.*, 7: 292-295.

CARINI, A. & J. MACIEL — 1914 — Existence de la maladie de Chagas dans l'État de São Paulo. *Bull. Soc. Path. exot.*, 7: 288-292.

CARINI, A. — 1945 — Caso agudo de doença de Chagas em uma criança de Maracá. *Arq. Biol.*, São Paulo, 29: 27-28.

CARINI, A. — 1945 — Lista dos parasitas novos ou ainda pouco conhecidos. *Arq. Biol.*, São Paulo, 29: 108-113.

CARINI, A. — 1940 — Considerações sobre a moléstia de Chagas. *Arq. Biol.*, São Paulo, 24: 77-84.

CARRILLO, A. J. — 1954 — El empleo del dieldrin en Venezuela. *Bol. Ofic. sanit. panamer.*, 37: 76-81.

CARVALHAL, S. S., O. PORTUGAL, N. PALADINO, A. YOUNES, C. MOURA CAMPOS FILHO, O. RAMOS, D. UVO & M. GEBARA — 1954 — Alterações do complexo QRS nas derivações precordiais e seu substrato anatômico em pacientes portadores de miocardite chagásica crônica. *Rev. paul. Med.*, 45: 161-168.

CARVALHAL, S. S., A. AGUIAR, O. PILAGALLO & A. FERRACCI — 1954 — Considerações sobre o comportamento da R.F.C. (técnica qualitativa) num grupo de indivíduos seguramente não portadores de infecção chagásica. *Folia clin. biol.*, São Paulo, 22: 65-68.

CARVALHAL, S. S., O. P. PORTUGAL, T. L. SILVA, O. RAMOS, N. PALADINO & A. A. AGUIAR — 1954 — Considerações sobre os resultados da R.F.C. relacionados com os dados epidemiológicos relativos à endemia chagásica. Estudos sobre indivíduos examinados sorológica, clínica e epidemiologicamente. *Folia clin. biol.*, São Paulo, 22: 97-104.

CARVALHAL, S. S., A. YOUNES, D. UVO, A. FERRARI, O. PILAGALLO & A. A. AGUIAR — 1954 — Estudos sobre a moléstia de Chagas numa coletividade operária no município de São Caetano do Sul. (Considerações clínicas e epidemiológicas). *Folia clin. biol.*, São Paulo, 22: 9-22.

CHIAVERINI, R., R. V. CERQUEIRA, P. R. REBOCHO & C. REY — 1950 — Cardiopatia crônica chagásica. *Rev. paul. Med.*, 36: 273-286.

CORRÊA, R. R. & A. SCHIAVI — 1951 — Informes sobre o *Panstrongylus megistus* no Estado de São Paulo. Sua presença no litoral (*Hemiptera, Reduviidae*). *Arq. Hig. Saúde púb.*, 16: 139-142.

CORRÊA, R. R., F. O. LIMA & P. J. CARVALHO — 1951 — Da infecção natural pelo *Trypanosoma cruzi* das ninfas e adultos do *Triatoma infestans* (*Hemiptera, Reduviidae*). Anais do IX Congresso brasileiro de Higiene, Pôrto Alegre, págs. 519-524.

CORRÊA, R. R. & A. A. AGUIAR — 1951 — O teste de precipitina na identificação da fonte alimentar do *Triatoma infestans* (*Hemiptera, Reduviidae*). Anais do IX Congresso brasileiro de Higiene, Pôrto Alegre, págs. 502-507.

CORRÊA, R. R., T. L. SILVA & A. S. RAMOS — 1952 — Os triatomíneos vectores da moléstia de Chagas no Estado de São Paulo, Brasil (*Hemiptera, Reduviidae*). *Arq. Hig. Saúde púb.*, 17: 535-546.

CORRÉA, R. R. & A. RIBEIRO DE LIMA — 1953 — Nota sobre o gênero *Rhodnius* Stal, 1859, no Estado de São Paulo, Brasil. *Arq. Hig. Saúde públ.*, 18: 267-280.

CORRÉA, R. R. — 1954 — Alguns dados sobre a criação de triatomíneos em laboratórios (*Hemiptera, Reduviidae*). *Folia clin. biol.*, São Paulo, 22: 51-56.

CORRÉA, R. R. — 1954 — Estudos sobre morfologia externa do gênero *Triatoma* Laporte, 1833 (*Hemiptera, Reduviidae*). *Folia clin. biol.*, São Paulo, 22: 23-50.

CORRÉA, R. R. — 1954 — Novo encontro do *Triatoma tibiamaculata* no Estado de São Paulo, Brasil. *Folia clin. biol.*, São Paulo, 22: 5-7.

CORRÉA, R. R. & A. SCHIAVI — 1954 — Resistência aos inseticidas, do *Triatoma infestans* em suas diversas fases evolutivas. *Folia clin. biol.*, São Paulo, 22: 57-64.

COUTINHO, J. O. — 1941 — Dados epidemiológicos sobre a doença de Chagas em uma zona restrita do Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 1: 381-388.

COUTINHO, J. O. & V. NUSSENZWEIG — 1952 — Infecção experimental de triatomíneos pelo *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920. *Folia clin. biol.*, São Paulo, 18: 181-187.

DÉCOURT, L. V., J. L. PEDREIRA DE FREITAS & M. ROMEIRO NETO — 1946 — Alterações cardíacas na moléstia de Chagas. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo*, 1: 32-47.

DÉCOURT, L. V. & L. G. SERRO AZUL — 1952 — Estudo propedêutico do intervalo Q-T. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo*, 7: 135-144.

DIAS, J. C. — 1950 — A cardiopatia crônica da moléstia de Chagas. *Resen. clin.-cient.*, 19: 53-61.

DIAS, E., T. CALDEIRA BRANT & R. M. SANTOS — 1951 — Casos de cardiopatia chagásica crônica no município de Mococa, Estado de São Paulo. *Rev. bras. Malar.*, 4: 184-186; Anais do IX Congresso brasileiro de Higiene, Porto Alegre, págs. 492-493.

DIAS, E. — 1955 — Notas sobre o tempo de evolução de algumas espécies de triatomíneos em laboratório. *Rev. bras. Biol.*, 15: 157-158.

DIAS, E. — 1957 — Profilaxia da Moléstia de Chagas. *O Hospital*, Rio de Janeiro, 51: 285-298.

DREYFUS, A. & M. E. BREUER — 1943 — Unicidade ou dualidade dos machos de *Telenomus fariai*. *Rev. bras. Biol.*, 3: 431-441.

FARIA, R., F. VASCONCELLOS & G. ROSENFELD — 1948 — Contribuição ao conhecimento da doença de Chagas na 2.^a Região Militar. *Rev. Med. milit.*, Rio de Janeiro, 37: 229-250.

FARIA, R., N. R. MELLO & L. G. MURAT — 1950 — Contribuição para o estudo médico e social do doador de sangue. *Folia clin. biol.*, São Paulo, 16: 158-169.

FAGGIN, J. E. — 1952 — Algumas considerações sobre a provável etiologia chagásica do megaesôfago. *Arq. Hig. Saúde públ.*, 17: 349-350.

FAGGIN, J. E. — 1952 — Considerações em torno da terapêutica da moléstia de Chagas. *Folia clin. biol.*, São Paulo, 18: 143-155.

FAGGIN, J. E. — 1952 — Considerações sobre moléstia de Chagas. *Bol. Santa Casa de Santos*, 4: 35-40.

FAGGIN, J. E. — 1953 — Algumas considerações gerais sobre o estudo clínico da moléstia de Chagas. *Arq. Hig. Saúde públ.*, 18: 25-31.

FONSECA, F. & Z. VAZ — 1928 — Novo tripanossoma de peixes brasileiros. *An. Fac. Med. São Paulo*, 3: 69-94.

FONSECA, F. — 1935 — *Trypanosoma mattogrossense*, sp. n. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 9: 191-192.

FONSECA, F. — 1936 — Tripanossomas de peixes brasileiros. Descrição de uma nova espécie. *Mem. Inst. Butantan*, 9: 151-184.

FONSECA, J. A. B., C. S. P. PASSALACQUA, A. RIBEIRO DE LIMA, A. P. OLIVEIRA & J. H. M. LACERDA — 1951 — Índices de infecção de triatomíneos no Estado de São Paulo. Anais do IX Congresso brasileiro de Higiene, Pôrto Alegre, págs. 325-333.

FORATTINI, O. P. & O. J. SILVA — 1950 — Resultados das pesquisas de triatomídeos no Distrito de Motuca (Município de Araraquara). *Arq. Fac. Hig. S. Paulo*, 4: 21-36.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE — 1946 — Inquérito preliminar sôbre a moléstia de Chagas no município de Cajuru, Estado de São Paulo, Brasil. *Hospital*, Rio de Janeiro, 29: 155-165.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE, M. MUNHOZ, J. J. ABDALA & S. MARTINS — 1946 — Inquérito preliminar sôbre a moléstia de Chagas no município de Franca, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Med.*, São Paulo, 30: 181-187.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE — 1947 — Contribuição para o estudo do diagnóstico da moléstia de Chagas por processos de laboratório. Tese de doutoramento. Dep. Paras. da U.S.P., São Paulo.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE — 1948 — Dados atuais sôbre a distribuição de triatomídeos e moléstia de Chagas na Delegacia de Saúde de Sorocaba. *Arq. Hig. Saúde públ.*, 13: 93-96.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE — 1948 — Orientação para o diagnóstico das formas crônicas de moléstia de Chagas. *Rev. clin. S. Paulo*, 24: 1-9; *Arq. Hig. Saúde públ.*, 1948, 13: 97-104.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE — 1948 — O problema da moléstia de Chagas. *Rev. paul. Med.*, 33: 83-90.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE — 1949 — Moléstia de Chagas. Conferência realizada na Sociedade Médica de São Carlos, em 26 de novembro de 1949. In "A Cidade", 8-5-1950, São Carlos.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE & J. O. ALMEIDA — 1949 — Nova técnica de fixação do complemento para a moléstia de Chagas. *Hospital*, Rio de Janeiro, 35: 787-800.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE — 1950 — Dados atuais sôbre a distribuição de triatomídeos e moléstia de Chagas no Estado de São Paulo. *Rev. paul. Med.*, 37: 197-236.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE — 1950 — Observações sôbre a estabilidade de antígenos de cultura de *Trypanosoma cruzi* para reação de fixação do complemento. *Hospital*, Rio de Janeiro, 38: 513-519.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE — 1950 — Observações sôbre o tempo ótimo para exame de triatomídeos empregados em xenodiagnóstico. *Folia clin. biol.*, São Paulo, 16: 180-185.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE — 1950 — Observações sôbre xenodiagnóstico praticados em reservatórios domésticos e silvestres do *Trypanosoma cruzi* em uma localidade endêmica da moléstia de Chagas. *Hospital*, Rio de Janeiro, 38: 521-529.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE — 1950 — Reação de fixação de complemento para diagnóstico da moléstia de Chagas pela técnica quantitativa. *Folia clin. biol.*, São Paulo, 16: 192-198.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE — 1950 — Resultados da aplicação do "Rhodiatox" e "Gamexane" contra os triatomídeos. Observações sobre o poder residual. *Rev. paul. Med.*, 36: 234-244.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE, R. MATEUS NETO, U. ANDRADE E SILVA, A. NESTI & A. BARBOSA LIMA — 1950 — Resultados de um inquérito sobre a moléstia de Chagas, realizado no município de São Carlos (Estado de São Paulo) e arredores. *Folia clin. biol.*, São Paulo, 16: 150-157.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE & F. X. PINTO E LIMA — 1950 — Sobre a transmissão intrauterina da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo*, 5: 1-8.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE & W. MENDONÇA — 1951 — Inquérito sobre a moléstia de Chagas no Município de Rio Verde (Estado de Goiás). *Hospital*, Rio de Janeiro, 39: 251-261.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE & J. P. ALMEIDA — 1951 — Inquérito sorológico sobre a moléstia de Chagas realizado no município de Echaporá (Estado de São Paulo). *Arq. Hig. Saúde púb.*, 16: 231-236.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE & C. FIGUEIREDO — 1951 — Resultados de investigações sorológicas sobre moléstia de Chagas realizadas no Estado de Goiás. *Arq. Hig. Saúde púb.*, 16: 227-230.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE — 1952 — O diagnóstico de laboratório da moléstia de Chagas. *Rev. clin. São Paulo*, 28: 1-10.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE — 1952 — O estado atual do tratamento da moléstia de Chagas. *Cadern. terap. Labor.*, 2: 1-4.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE, U. FRANCO DA ROCHA, J. A. Z. VASQUEZ & T. N. APTIMUS — 1952 — Inquérito preliminar sobre a infecção pelo *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) entre cães e gatos domésticos no município de Campo Florido (Triângulo Mineiro), Minas Gerais, *Rev. Fac. Med. vet.*, São Paulo, 4: 545-551.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE, A. BIANCALANA, V. AMATO NETO, V. NUSSENZWEIG, R. SONNTAG & J. G. BARRETO — 1952 — Moléstia de Chagas em bancos de sangue na Capital de São Paulo. *Hospital*, Rio de Janeiro, 41: 229-236.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE, V. AMATO NETO, R. SONNTAG, A. BIANCALANA, V. NUSSENZWEIG & J. Q. BARRETO — Primeiras verificações de transmissão acidental da moléstia de Chagas ao homem por transfusão do sangue. *Rev. paul. Med.*, 40: 36-40.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE — 1952 — Reação de fixação do complemento para diagnóstico da moléstia de Chagas pela técnica quantitativa: vantagens do método e sua aplicação em saúde pública. *Hospital*, Rio de Janeiro, 41: 257-267.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE, M. F. LION & J. T. A. TARTARI — 1953 — Resultados de uma investigação sobre a moléstia de Chagas realizada no Município de Marília e outros, com estudo clínico de dois casos agudos da doença. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo*, 8: 81-92.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE — 1954 — O diagnóstico de laboratório da moléstia de Chagas. *Folia clin. biol.*, São Paulo, 21: 219-228.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE & R. TEIXEIRA MENDES — 1955 — Investigações sorológicas na forma nervosa crônica da moléstia de Chagas entre pacientes internados em hospital psiquiátrico. *Rev. paul. Med.*, 46: 123-126.

FREITAS, J. L. PEDREIRA DE, V. AMATO NETO & T. FUJIOKA — 1955 — Reação de fixação do complemento com antígeno de *Trypanosoma cruzi* em transudatos. *Hospital*, Rio de Janeiro, 47: 255-257.

HACK, W. H. & A. F. ROMANA — 1953 — Estudios comparativos de la acción de algunos insecticidas sobre *Triatoma infestans*. *An. Inst. Med. region.*, 3: 277-282.

HARON, TUFFY — 1951 — Inquérito epidemiológico e profilaxia da moléstia de Chagas no Município de Garça, Estado de São Paulo. Anais do IX Congresso brasileiro de Higiene, Pôrto Alegre, págs. 424-433.

JAMRA, M. A., V. AMATO NETO, J. L. PEDREIRA DE FREITAS, L. H. PEREIRA DA SILVA & J. T. A. TARTARI — 1954 — Aspectos hematológicos da doença de Chagas nas fases iniciais. *Rev. paul. Med.*, 45: 544-552.

LYRA, A. — 1949 — Doença de Chagas. *Bol. mens. Inform. Depart. Saúde*, São Paulo, 5: 3-12.

LACERDA, J. H. M. — 1951 — A moléstia de Chagas no município de Santa Bárbara do Rio Pardo, Estado de São Paulo. Notas sobre epidemiologia e profilaxia. Anais do IX Congresso brasileiro de Higiene, Pôrto Alegre, págs. 454-460.

LACERDA, J. H. M. — 1952 — Inquéritos epidemiológicos da moléstia de Chagas em Ibirarema, Estado de São Paulo. *Arq. Hig. Saúde públ.*, 17: 547-551.

LIMA, F. L. & T. LOPES DA SILVA — 1951 — Distribuição dos Triatomíneos no Estado de São Paulo. Anais do IX Congresso Brasileiro de Higiene, Pôrto Alegre, págs. 253-266.

MACIEL, J. J. — 1954 — O *Pneumocystis carinii* como causa da pneumonia grave, em crianças. *Arq. Biol.*, 38: 69-72.

MEDeiros, A., S. V. VALÉRI & D. PALAVRA — 1951 — Contribuição à organização de Bibliotecas sobre moléstia de Chagas. Anais do IX Congresso brasileiro de Higiene. Pôrto Alegre, págs. 525-551.

MEIRA, J. A., V. AMATO NETO, J. T. A. TARTARI & R. SONNTAG — 1954 — Tratamento de casos agudos da doença de Chagas por meio da puromicina (ex-acromicina). Resultados obtidos. *Rev. bras. Med.*, 11: 829-831.

MELLO, A. & N. R. MELLO — 1955 — A forma nervosa crônica da doença de Chagas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 15: 194-222.

MIRANDA, J. S. — 1951 — Medidas estatísticas da preferência do *Triatoma infestans* pelos tipos de habitações no município de Garça, Estado de São Paulo. Anais do IX Congresso brasileiro de Higiene, Pôrto Alegre, págs. 484-487.

MINGOJA, Q. — 1953 — Novidades médicas e farmacêuticas durante o ano de 1952. *Arq. Biol.*, 37: 22-46.

MINGOJA, Q. — 1954 — Novidades médicas e farmacêuticas durante o ano de 1953. *Arq. Biol.*, 38: 21-38.

MINGOJA, Q. — 1955 — Novidades médicas e farmacêuticas durante o ano de 1954. *Arq. Biol.*, 39: 21-44.

MINGOJA, Q. — 1945 — Progressos na quimioterapia das leishmanioses. *Arq. Biol.*, 29: 63-71.

MERCER, H. H. — 1947 — Moléstia de Chagas na Região de São José do Rio Preto. *Rev. paul. Med.*, 30: 290-291.

NUSSENZWEIG, V. & R. SONNTAG — 1952 — Xenodiagnóstico artificial. Novo processo. Primeiros resultados positivos. *Rev. paul. Med.*, 40: 41-43.

NUSSENZWEIG, V., R. SONNTAG, A. BIANCALANA, J. L. PEDREIRA DE FREITAS, V. AMATO NETO & J. KLOETZEL — 1953 — Ação de corantes tri-fenil-metânicos sobre

o *Trypanosoma cruzi* "in vitro". Emprêgo da violeta de genciana na profilaxia da transmissão da moléstia de Chagas por transfusão de sangue. *Hospital*, Rio de Janeiro, 44: 731-744.

NUSSENZWEIG, V., R. SONNTAG, J. L. PEDREIRA DE FREITAS, V. AMATO NETO, A. BIANCALANA & J. KLOETZEL — 1954 — Ação de agentes físicos e químicos sobre o *Trypanosoma cruzi* "in vitro". *Hospital*, Rio de Janeiro, 45: 589-599.

NUSSENZWEIG, V. & R. FARIA — 1955 — Prova da antiglobulina no diagnóstico da doença de Chagas na fase crônica. *Hospital*, Rio de Janeiro, 47: 701-710.

PASSALACQUA, C. S. P. — 1951 — Epidemiologia e profilaxia da doença de Chagas no município de Araçoiaba da Serra, Estado de São Paulo. Anais do IX Congresso brasileiro de Higiene, Pôrto Alegre, págs. 434-439.

PASSALACQUA, C. S. P., V. AMATO NETO, I. ZATZ & A. DAMASCO — 1953 — Incidência da doença de Chagas entre candidatos a doadores de um banco de sangue de São Paulo. Inquérito sorológico. *Hospital*, Rio de Janeiro, 43: 443-447.

PAZZANESE, D. & S. BERTACCHI — 1944 — Afecções cardiovasculares e ecg normal. *Publ. méd.*, São Paulo, Novembro: 39-63.

PESSOA, S. B., J. O. COUTINHO & J. D. MOREIRA — 1941 — Sobre um caso de moléstia de Chagas (forma aguda) em Pedregulho — Estado de São Paulo — Brasil. *Rev. clín. S. Paulo*, 10: 1-3.

PESSOA, S. B. & J. SPINELLI — 1942 — Primeiro caso da forma aguda da moléstia de Chagas no município de Franca, Estado de São Paulo. *Rev. clín. S. Paulo*, 11: 153-156.

PESSOA, S. B., F. OLIVEIRA LIMA & I. ALVES DOS SANTOS — 1942 — Sobre o encontro de mais sete casos de moléstia de Chagas no município de Itaporanga (Estado de São Paulo). *Rev. Med.*, São Paulo, 26 (107): 11-20.

PESSOA, S. B. & J. D. MOREIRA — 1942 — Segundo caso agudo de moléstia de Chagas no município de Pedregulho, Estado de São Paulo. *Brasil-méd.* 56: 197-199.

PESSOA, S. B. — 1928 — Contribuição ao estudo dos hemoparasitas dos ophidios. I. nota: Nova espécie de *Trypanosoma* parasita do *Philodryas nattereri*. *Rev. Biol. Hig.*, 1 (3): 51-62.

PESSOA, S. B. & J. L. PEDREIRA DE FREITAS — 1951 — Aspectos morfológicos do *Trypanosoma cruzi* e de outros parasitas de importância no diagnóstico da moléstia de Chagas. *Folia clin. biol.*, São Paulo, 17: 175-190.

PESSOA, S. B. — 1948 — Habitações e endemias rurais. *Rev. Arquiv.*, Ministério da Educação e Saúde (Serv. Doc.), Rio de Janeiro, 1: 3-9.

PESSOA, S. B. & J. O. COUTINHO — 1949 — Forma aguda da moléstia de Chagas no município de Assis, Estado de São Paulo. *Rev. clín. S. Paulo*, 25: 89-90.

PÉRA, J. S. — 1951 — O diagnóstico da cardiopatia crônica chagásica. *Rev. bras. Méd.*, 8: 790-796.

PÉRA, J. S. — 1952 — O electrocardiograma na cardiopatia chagásica crônica. *Arq. bras. Cardiol.*, 5: 427-436.

PÉRA, J. S. — 1952 — O problema da doença cárdio-vascular. *Rev. bras. Méd.*, 9: 790-793.

PÉRA, J. S. — 1953 — Cardiopatia chagásica e mega. *Rev. bras. Méd.*, 10: 515-517.

PÉRA, J. S. — 1953 — Sobre o aspecto electrocardiográfico da cardiopatia chagásica crônica. *Hospital*, Rio de Janeiro, 44: 253-258.

PEREIRA, M. C. — 1952 — Cartilha da moléstia de Chagas. Serv. Prof. Malária do Dep. de Saúde, São Paulo, Gráfica Paulistana.

PINOTTI, M. — 1952 — Profilaxia da doença de Chagas no Brasil. Memória del primer. cong. interamer. de hig., Cuba, págs. 681-688.

PINOTTI, M. — 1953 — Método de tratamiento domiciliario contra triatominos en el periodo de 1950-1953 (Resumen de trabajos realizados). In 1.^a conf. nac. de enferm. de Chagas, Buenos Aires, págs. 37-42.

PINTO, O. S. — 1951 — Contribuição ao conhecimento da distribuição geográfica dos triatomídeos domiciliários e de seus índices de infecção natural pelo *Schizotrypanum cruzi* no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. bras. Malariol.*, 4: 131-138; Anais do IX Congresso brasileiro de Higiene, Pôrto Alegre, págs. 271-282.

PINTO, O. S. — 1951 — Profilaxia da doença de Chagas na região da bacia do Rio Grande, Estado de São Paulo, por meio de inseticidas. *Rev. bras. Malariol.*, 4: 176-183; Anais do IX Congresso brasileiro de higiene, Pôrto Alegre, págs. 440-446.

PITÃO, J. S. — 1951 — Megacólon, megaesôfago e doença de Chagas. *Vida méd.*, 18: 5-11.

PORTUGAL, O. P., G. L. RAMOS, S. CARVALHAL, N. PALADINO, T. LOPES DA SILVA & H. MAFRA FILHO — 1954 — Inquérito clínico, epidemiológico e sorológico sobre a moléstia de Chagas no município de Itaporanga, Estado de São Paulo. *Folia clin. biol.*, São Paulo, 22: 69-78.

RAMOS, J., J. L. PEDREIRA DE FREITAS & S. BORGES — 1949 — Moléstia de Chagas. Estudo clínico. *Arq. bras. cardiol.*, 2: 111-162.

RAMOS, A. S. — 1952 — Inquéritos epidemiológicos sobre a moléstia de Chagas em Santa Rita do Passa Quatro, Estado de São Paulo. *Folia clin. biol.*, São Paulo, 18: 99-108.

RAMOS, A. S., J. H. M. LACERDA, N. N. BRANDO & A. H. SAMPAIO — 1952 — Mais um caso agudo de moléstia de Chagas no município de Maracá, Estado de São Paulo, *Arq. Hig. Saúde púb.*, 17: 429-433.

RODOVALHO, O. A., J. C. DIAS, O. G. TISI, L. V. DÉCOURT, J. RAMOS JR. & J. L. ALVES CORREIA — 1948 — Miocardite crônica chagásica. *Arq. bras. Cardiol.*, 1: 333-346.

ROSENFELD, G. & F. A. CARDOSO — 1941 — Distribuição dos triatomídeos e da moléstia de Chagas no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. clín. S. Paulo*, 9: 198-209.

ROSENFELD, G. & F. A. CARDOSO — 1941 — Novos dados para o estudo da distribuição dos triatomas no Estado de São Paulo e norte do Paraná. *Rev. clín. S. Paulo*, 9: 145-147.

ROSENFELD, G. — 1940 — Presença de *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811) no Estado de São Paulo. *Rev. clín. S. Paulo*, 7: 121.

SCHIAVI, A., A. RIBEIRO LIMA & A. SILVA RAMOS — 1951 — A desinsetização da área central do Estado de São Paulo visando aos vectores da moléstia de Chagas. Anais do IX Congresso brasileiro de Higiene, Pôrto Alegre, págs. 419-423.

SCHIAVI, A., T. LOPES DA SILVA & F. P. ALVES — 1952 — Luta contra os triatomíneos vectores da moléstia de Chagas no Estado de São Paulo. X Congresso brasileiro de Higiene, Belo Horizonte.

SERVIÇO DE PROFILAXIA DA MALÁRIA — 1951 — Contribuição ao levantamento epidemiológico da moléstia de Chagas no Estado de São Paulo. *Arq. Hig. Saúde públ.*, 15: 109-110.

SILVA, L. H. PEREIRA DA & V. NUSSENZWEIG — 1953 — Sobre uma cepa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo branco. *Folia clin. biol.*, São Paulo, 20: 191-207.

SILVA, T. LOPES DA, A. SCHIAVI, J. A. BITTENCOURT DA FONSECA, T. HARON, A. P. OLIVEIRA, C. S. P. PASSALACQUA & A. R. LIMA — 1951 — Contribuição à carta da distribuição dos triatomíneos no Estado de São Paulo. Nota II. *Arq. Hig. Saúde públ.*, 16: 109-110.

SILVA, T. LOPES DA & O. UNTI — 1952 — Epidemiologia e profilaxia da moléstia de Chagas no Estado de São Paulo. *Arq. Hig. Saúde públ.*, 17: 83-90.

SILVA, T. LOPES DA & O. UNTI — 1951 — Organização do serviço para combate à moléstia de Chagas no Estado de São Paulo. Anais do IX Congresso brasileiro de Higiene, Pôrto Alegre, págs. 461-471.

SILVA, T. LOPES DA — 1952 — O que se deve saber sobre a moléstia de Chagas. Publicação da Secção de Propaganda e Educação Sanitária, do Dep. de Saúde, Estado de São Paulo.

SILVA, T. LOPES DA — 1954 — Aspectos da epidemiologia e profilaxia da moléstia de Chagas no Estado de São Paulo. *Arq. Hig. Saúde públ.*, 19: 36.

SILVA, T. LOPES DA & R. R. CORRÊA — 1954 — Informes atuais sobre a distribuição geográfica dos triatomíneos na área paulista. *Folia clin. biol.*, São Paulo, 22: 79-84.

SILVA, T. LOPES DA — 1955 — Contrôlo pelo inseticida de artrópodos transmissores de doença. (Roteiro de uma aula dada na Faculdade de Higiene, em 22 de junho de 1955).

SIMÕES, A. J. P. — 1942 — Investigações epidemiológicas sobre a doença de Chagas no município de Monte Aprazível (Estado de São Paulo). *Hospital*, Rio de Janeiro, 21: 453-466.

TRANCHESI, B. & J. TRANCHESI — 1946 — Tipos de cardiopatias que incidem em serviços obstétricos. *Hospital*, Rio de Janeiro, 29: 171-174.

UNTI, O. & T. LOPES DA SILVA — 1951 — Levantamento da moléstia de Chagas no Estado de São Paulo pela reação sorológica. Anais do IX Congresso brasileiro de Higiene, Pôrto Alegre, págs. 342-351.

UNTI, L. & T. LOPES DA SILVA — 1951 — Moléstia de Chagas no Vale do Paraíba, Estado de São Paulo. Nota sobre a profilaxia e epidemiologia. *Arq. Hig. Saúde públ.*, 16: 131-138.

UNTI, O., T. LOPES DA SILVA & A. A. DE AGUIAR — 1952 — Alguns dados sobre a reação de Machado & Guerreiro na infância. *Arq. Hig. Saúde públ.*, 17: 529-534.

UVO, D., A. A. AGUIAR, S. CARVALHAL, N. PALADINO & N. V. SOUBINE — 1954 — Estudo comparativo dos resultados da R.F.C. para diagnóstico da moléstia de Chagas, obtidos com a realização das técnicas qualitativa e quantitativa. *Folia clin. biol.*, São Paulo, 22: 85-96.

VELLOSO, M. B. — 1951 — Divulgação sanitária na luta contra a moléstia de Chagas no Estado de São Paulo. Anais do IX Congresso brasileiro de Higiene, Pôrto Alegre, págs. 508-515.

WASICKY, R. & O. UNTI — 1950 — Experiências realizadas com alguns inseticidas de ação sobre triatomíneos transmissores da moléstia de Chagas. *An. Fac. Farm. Odont. S. Paulo*, 8: 197-201.

ESTUDO DA AÇÃO TERAPÊUTICA DA DITIAZANINA NA ESTRONGILOIDOSE E NA TRICOCEFALOSE HUMANA

MARCELO OSWALDO ÁLVARES CORRÊA (*)

A estrogiloidose e a tricocefalose são duas parasitoses largamente disseminadas pelo mundo, calculando Stoll que existam 335 milhões de pessoas parasitadas pelo *Trichocephalus trichiurus* e 35 milhões pelo *Strongyloides stercoralis*; evidentemente, são números de valor muito relativo pois que a incidência das helmintoses varia, no mesmo local, com o método de exame empregado. Em particular, no que concerne ao *Strongyloides stercoralis*, apresenta real valor a incidência obtida pelo exame das fezes através ou do método de Baermann adaptado à extração de larvas das fezes, COUTINHO, CAMPO & AMATO (1951) ou do método de RUGAI e col. (1954), técnica esta cujos resultados se superpõem aos daquela, conforme demonstraram AMATO NETO, CORRÊA & FLEURY (1957). Evidentemente, o mesmo se diga em relação aos contrôles fecais posteriores à administração de determinada droga; como esta regra fundamental não é observada pela maioria senão a totalidade dos autores estrangeiros, segue-se que as conclusões que se referem ao valor terapêutico da droga em questão, não correspondem à realidade

No quadro adiante reproduzido, extraído de publicação de COUTINHO e col. (1951), podem-se apreciar os resultados obtidos em 176 indivíduos por quatro métodos diferentes de pesquisa de larvas:

C A S O S	Número	Porcentagem
1 — Revelados pelo exame direto	62	32,22
2 — Revelados pela placa de Petri	114	64,77
3 — Revelados pela sedimentação	117	66,47
4 — Revelados pelo Baermann	160	90,90

(*) Médico-chefe da Secção de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz.
Recebido para publicação em 14 de novembro de 1958.

O método da sedimentação em copo é, pois, o que mais se aproxima do método de Baermann modificado; eis porque, feita a devida ressalva, alinhamos, no quadro seguinte, os números referentes à incidência do *Strongyloides stercoralis* obtidos nos diferentes Laboratórios Regionais e no Laboratório Central do Instituto Adolfo Lutz, durante o ano de 1958, através do método da sedimentação em copo; êstes dados poderão quiçá ilustrar a distribuição da estrongiloidose em nosso Estado.

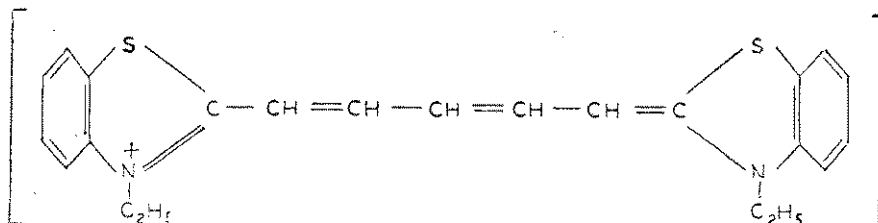
INCIDÊNCIA DE *S. STERCORALIS*

LOCALIDADE	N.º de amostras examinadas	N.º de exames positivos	Porcentagem
Capital	15.215	1.237	8,13
Santos	18.296	123	0,68
Ribeirão Preto	11.643	1.267	10,90
Campinas	16.155	54	0,28
Taubaté	7.508	1.028	13,36
Bauru	7.986	1.433	17,49
Botucatu	4.027	119	2,95
São José do Rio Preto	6.925	1.078	5,16
Presidente Prudente	9.625	869	9,02
Itapetininga	5.814	62	1,06

Desnecessário se torna acentuar a extensão da estrongiloidose humana entre nós, a gravidade das manifestações clínicas que acarreta e a importância que assume, para o médico clínico, o aparecimento de uma droga que realmente cure a parasitose, como é o caso do iodeto de ditiazanina que tivemos a oportunidade de experimentar. O mesmo se diga com relação aos casos humanos de parasitismo pelo *Trichocephalus trichiurus*, que, entre nós — ao que nos parece — não oferecem a gravidade verificada na América Central, nas Antilhas e no Chile (BASNUEVO, 1952); todavia, é a parasitose largamente disseminada particularmente entre os escolares. Em 55.764 exames realizados entre escolares da Capital, de 1943 a 1952, pelo método de Willis, CORRÊA e col. (1954) encontraram a incidência de 42,83% para o *Trichocephalus trichiurus* e 40,21% para o *Ascaris lumbricoides*.

Agradecemos à chefia dos Laboratórios Regionais o fornecimento dos dados pedidos.

A droga em estudo é o iodeto de 3,3', dietiltiadicarbocianina e possui a seguinte fórmula estrutural:



Os primeiros estudos efetuados demonstraram a atividade anti-helmíntica dos derivados da cianina contra o *Litosomoides carinii*, parasito do rato do algodão, pois que, em concentrações extremamente baixas (5×10^{-8} M), produzem acentuada diminuição do consumo de oxigênio do verme adulto, associada a aumento compensador da glicólise. Por conseguinte, é possível que os derivados da cianina exerçam sua ação quimioterapêutica através da inibição dos sistemas enzimáticos relacionados ao metabolismo oxidativo.

Estudos recentes revelaram que em outro helminto, o *Trichuris vulpis*, as reações metabólicas anaeróbias são inibidas pelos derivados da cianina. Desta maneira, a ação anti-helmíntica dos derivados da cianina pode ser explicada quer através da inibição do metabolismo oxidativo quer através da inibição do metabolismo anaeróbio.

FRYE e col. (1957), em estudos preliminares, obtiveram altas porcentagens de curas em portadores de *Trichocephalus trichiurus* tratados pela ditiazanina; a infestação foi completamente eliminada em 14 de 16 pacientes que receberam 200 mg da droga em dragéias entéricas, 3 vezes por dia, durante 5 dias. Doze de dezessete outros (71%) pacientes foram curados com uma dose menor, de 200 mg duas vezes por dia, durante 5 dias. Os vermes estavam mortos e parcialmente corados pela droga quando eliminados durante o período de tratamento.

SWARTZWELDER e col. (1957) trataram 164 adultos portadores de tricocefalose com ditiazanina na posologia de 200 mg três vezes por dia, durante um, dois, três e cinco dias.

As porcentagens de cura obtidas foram: tratamento de um dia, 3%; de dois dias, 24%; de três dias, 77% e de cinco dias, 97%.

Em casos de alta infestação humana pelo *T. trichiurus*, a ditiazanina demonstrou dramática ação, como no caso relatado por SWARTZWELDER (1957), de uma criança hospitalizada em estado de

coma, emaciada, desidratada e inconsciente depois de disenteria de longa duração devida à infestação maciça pelo *T. trichiurus*. As fezes continham 412.800 ovos por grama. Administrada a ditiazanina, houve eliminação de 3.162 vermes adultos, com melhora dramática da sintomatologia e posterior restabelecimento da criança.

SWARTZWELDER e col. (1957) relataram o animador resultado de suas pesquisas sobre a ação terapêutica da ditiazanina nos portadores de infestação pelo *Strongyloides stercoralis*; como critério de cura utilizaram o exame de numerosas amostras de fezes por várias técnicas e o exame do fluido duodenal obtido por entubação. Trataram 18 pacientes com a posologia de 200 mg em dragéias entéricas, administradas três vezes por dia, duas horas após as refeições, em períodos de cinco ou de vinte e um dias; obtiveram o total de 16 curas ou seja, 89% de sucesso terapêutico.

Em publicação ulterior, ainda SWARTZWELDER e col. (1958) obtiveram a cura de 16 dentre 21 pacientes portadores de estrogiloidose. Ainda SWARTZWELDER e col. (1957) administraram ditiazanina na posologia de 200 mg, três vezes por dia, depois das refeições, durante 5 dias, a 20 meninos, cujas idades variavam de 8 a 13 anos, portadores de *Enterobius vermicularis*. O controle do tratamento foi efetuado através de sete consecutivos "swabs" anais segundo a técnica do celofane adesivo, patenteando-se a cura parasitológica na totalidade dos casos (100%). Em subsequente estudo, a 15 meninos com enterobíase foi administrada a mesma droga na posologia reduzida de 100 mg, três vezes por dia, durante cinco dias, ainda com 100% de curas parasitológicas. Em apenas três pacientes registraram-se náuseas e vômitos.

Recentemente, WAGNER e col. (1958), em 64 pacientes, utilizaram dois tipos de posologia da ditiazanina; no primeiro, administraram 200 mg, 3 vezes por dia, durante 4 dias; no segundo, 300 mg, 3 vezes por dia, durante 3 dias.

Os resultados obtidos são demonstrados pelo seguinte quadro:

HELMINTOS	Casos tratados e controlados	N.º de casos negativos	Porcentagem
<i>Ascaris lumbricoides</i>	22	22	100,0
<i>Trichocephalus trichiurus</i> ...	5	5	100,0
Ancilostomídeo	16	3	18,7
<i>Hymenolepis nana</i>	23	10	43,5
<i>Taenia</i> sp.	6	6	100,0
<i>Enterobius vermicularis</i>	3	3	100,0
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1	1	100,0

32,8% dos pacientes queixaram-se de náuseas e 24,7%, de náuseas e vômitos.

MATERIAL E MÉTODOS

O objetivo primordial inicial desta pesquisa foi o de verificar o efeito terapêutico do iodeto de ditiazanina sobre casos humanos de estrogiloidose e de tricocefalose. As referências aos outros helmintos parasitos devem-se às associações poli-helmínticas encontradas no material em estudo.

Todos os casos tratados não eram hospitalizados, a maioria pertencendo à clínica particular e ao grupo etário de 14 anos para cima.

Foram experimentados dois esquemas de tratamento: no primeiro, a dose diária era de 600 mg, divididos em três tomadas, duas horas após a refeição matinal, o almoço e o jantar, durante sete dias. No segundo esquema, a dose diária era de 300 mg, divididos em 3 tomadas, duas horas após as refeições, durante sete dias.

Os exames de fezes para controle de tratamento obedeciam às seguintes técnicas:

- 1 — Método de Rugai e col. para pesquisa de larvas de *Strongyloides stercoralis*
- 2 — Método de Hoffmann, Pons e Janer
- 3 — Método de Willis

Os exames de controle se estenderam dentro de um prazo variável de 5 a 48 dias depois do último dia de tratamento e nunca foram feitos em menos de três amostras em cada caso tratado.

RESULTADOS

Nos quadros n.º 1 e n.º 2 estão tabulados os resultados do tratamento das diversas parasitoses efetuado, respectivamente, de acordo com o esquema de 600 mg e de 300 mg da droga por dia.

QUADRO N.º 1

Esquema de 600 mg diários

NÚMERO DE PACIENTES TRATADOS: 18

HELMINTOS	Casos tratados e controlados	N.º de casos negativos	Porcentagem
<i>Strongyloides stercoralis</i>	15	15	100,0
<i>Trichocephalus trichiurus</i>	11	9	81,8
<i>Ascaris lumbricoides</i>	7	5	71,4
<i>Necator americanus</i>	2	2	100,0
<i>Hymenolepis nana</i>	1	1	100,0

Apresentaram sintomas de intolerância ao medicamento oito pacientes, a saber: náuseas e vômitos: 5 pacientes; diarreia: 3 pacientes.

A medicação prosseguiu em todos os pacientes até completar 7 dias de tratamento.

QUADRO N.º 2

Esquema de 300 mg diários

NÚMERO DE PACIENTES TRATADOS: 19

HELMINTOS	Casos tratados e controlados	N.º de casos negativos	Porcentagem
<i>Strongyloides stercoralis</i>	17	16	94,1
<i>Trichocephalus trichiurus</i> ...	7	7	100,0
<i>Ascaris lumbricoides</i>	2	0	0
<i>Necator americanus</i>	2	1	50,0
<i>Hymenolepis nana</i>	2	1	50,0

Apresentaram sintomas de intolerância ao medicamento 5 pacientes, a saber: quatro acusaram vômitos e um, vômito e diarreia. Em todos a medicação prosseguiu até completar sete dias.

No quadro n.º 3 figuram os resultados totais, abstração feita da posologia seguida:

QUADRO N.º 3

TOTAL DE PACIENTES TRATADOS: 37

HELMINTOS	Casos tratados e controlados	N.º de casos negativos	Porcentagem
<i>Strongyloides stercoralis</i>	32	31	96,8
<i>Trichocephalus trichiurus</i> ...	18	16	89,0
<i>Ascaris lumbricoides</i>	9	5	55,5
<i>Necator americanus</i>	4	3	75,0
<i>Hymenolepis nana</i>	3	2	66,6

Apresentaram sintomas discretos de intolerância 13 pacientes (37,1%), os quais não impediram que a medicação prosseguisse. Deve-se registrar que 3 outros pacientes não conseguiram tolerar a medicação interrompendo o tratamento no 1.º, 3.º e 4.º dias.

Verifica-se, pelo exame dos quadros demonstrativos, que a dose de 300 mg diários, mantendo índice praticamente idêntico de curas parasitológicas é, logicamente, melhor tolerada pelos pacientes, devendo ser, pois, a posologia indicada.

Os índices de cura parasitológica obtidos, de 96,8% e de 89% respectivamente, para o *Strongyloides stercoralis* e o *Trichocephalus trichiurus*, dizem com eloquência do alto valor da ditiazanina como anti-helmíntico, particularmente em se considerando que justamente contra êsses parasitos o arsenal terapêutico se apresentava desprovido de recursos. Com efeito, a violeta de genciana não merecia o galardão que se lhe atribuía de ser a droga específica no combate à estrongiloidose humana, como o demonstraram entre nós COUTINHO e col. (1954). Quanto à tricocefalose, o melhor tratamento que se conhecia era pouco prático e de difícil aplicação pois consistia na aplicação de enemas de hexilresorcinol, segundo as técnicas preconizadas por JUNG (1951), BASNUEVO (1952) e JUNG (1954) e referidas por CORRÊA (1955).

Com referência às demais helmintíases, é óbvio que nada se pode concluir em vista do pequeno número de observações realizadas; é de se assinalar, apenas, que em dois pacientes medicados e que eliminavam anéis de *Taenia sp.* não se observou efeito terapêutico algum. WAGNER e col. (1958) referem 6 casos de teníase que consideraram curados, segundo se depreende da leitura de seu trabalho, pelo fato de se tornar negativo o exame das fezes para ovos de *Taenia*. Tal critério é falho pois que a pesquisa de ovos dêste cestódio, no exame parasitológico de fezes, revela porcentagem dos casos bem menor do que a obtida pela pesquisa de anéis — ou referência de eliminação de anéis — ou pelo exame microscópico do esfregaço anal pelo celofane adesivo.

RESUMO

Foram tratados 37 pacientes, dos quais 32 eram portadores de *Strongyloides stercoralis* e 18 de *Trichocephalus trichiurus*, pela ditiazanina (iodeto de 3,3' dietiltiadicarbocianina), segundo dois esquemas posológicos: 100 mg três vezes por dia, durante 7 dias e 200 mg, três vezes por dia, durante 7 dias.

O critério de cura consistiu na negativação do exame de fezes, efetuado segundo as técnicas de Rugai e col., da sedimentação em copo de Hoffmann, Pons & Janer, e do método de Willis; foram examinadas três amostras diferentes, no período compreendido

entre o 5.^o e o 48.^o dia após o término da medicação. De 37 pacientes tratados, 13 apresentaram náuseas, vômitos ou diarreia, sintomas êstes que desapareceram com o prosseguimento da medicação.

Sendo melhor tolerado e fornecendo praticamente o mesmo resultado terapêutico, o esquema de 100 mg três vêzes por dia, durante 7 dias, seria o preferido para uso corrente na clínica.

SUMMARY

A STUDY ON THE THERAPEUTIC ACTION OF DITHIAZANINE IN HUMAN STRONGYLOSIS AND TRICHOCEPHALOSIS

Thirty-seven patients with *Strongyloides stercoralis* (32 cases) and with *Trichocephalus trichiurus* (18 cases) were treated with dithiazanine (3,3' diethylthiadicarbocyanine iodide) in two dosage schedules: 100 mg three times a day, for 7 days, and 200 mg three times a day, for 7 days. Criterium for cure was negative laboratory tests of the feces, performed according to Rugai *et al's* technic, Hoffmann, Pons and Janer's cup sedimentation, and Willis' methods. Three different samples were tested from the 5th to the 48th day after the end of therapy. Among 37 treated patients, 13 presented nausea, vomiting or diarrhea, but these symptoms disappeared with continuation of treatment. The schedule of 100 mg three times a day, for 7 days, is better endured by the patients and gives similar therapeutic results. It should be preferred for current clinical use.

BIBLIOGRAFIA

AMATO NETO, V., M. O. A. CORRÊA & G. C. FLEURY — 1957 — Estudo sôbre o valor do método de Rugai, Mattos e Brisola na pesquisa de larvas de nematóides nas fezes. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 17:33-38.

BASNUEVO, J., O. COWLEY, F. SOLONGO, E. BLANCO-ROBASSE & R. ACHKAR — 1952 — Eine neue Art von Behandlung der Trichocephalialis. *Z. Tropenmed. u. Parasit.*, 3:371-374.

CORRÊA, M. O. A. — 1955 — Recentes aquisições em terapêutica anti-helmíntica. *Resen. clin.-cient.*, 24:193-197.

CORRÊA, M. O. A., G. C. FLEURY, Y. N. DUARTE & R. A. BUENO — 1954 — Considerações sôbre alguns aspectos das helmintoses em nosso meio escolar. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 14:27-31.

COUTINHO, J. O., R. CAMPOS & V. AMATO NETO — 1951 — Notas sôbre o diagnóstico e prevalência da estrogiloidose em São Paulo. *Rev. clin. São Paulo*, 27: 1-10.

COUTINHO, J. O., J. CROCE, R. CAMPOS, V. AMATO NETO & L. C. FONSECA — 1954 — Contribuição para o conhecimento da estrogiloidiase humana em São Paulo. *Folia clin. biol., São Paulo*, 21:93-120.

FRYE, W. W., C. SWARTZWELDER, R. LAMPERT, S. H. ABADIE & C. B. CARSON JR. — 1957 — An effective trichuricide suitable for oral administration. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 6:890-893.

JUNG, R. C. & P. C. BEAVER — 1951 — Clinical observations on *Trichocephalus trichiurus* (whipworm) infestation in children. *Pediatrics*, 8:548-557.

JUNG, R. C. — 1954 — Use of a hexylresorcinol tablet in the enema treatment of whipworm infection. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 3: 918-921.

RUGAI, E., T. MATTOS & A. P. BRISOLA — 1954 — Nova técnica para isolar larvas de nematóides das fezes — modificação do método de Baermann. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.*, 14:5-8.

SWARTZWELDER, J. C., J. P. MUHLEISEN, S. H. ABADIE, W. W. FRYE, C. A. JONES, P. E. ROBERTSON & J. F. HEBERT — 1958 — Therapy of strongyloidiasis with dithiazanine. *Arch. intern. Med.*, 101:658-661.

SWARTZWELDER, J. C., W. W. FRYE, J. P. MUHLEISEN, J. H. MILLER, R. LAMPERT, A. P. CHAVARRIA, S. H. ABADIE, S. O. ANTONY & R. W. SAPPENFIELD — 1957 — Dithiazanine, an affective broad-spectrum anthelmintic. *J. Amer. med. Ass.*, 165:2063-2067.

WAGNER, E. D., F. R. LEMON & H. S. BURNETT — 1958 — The use of diathiazanine in the treatment of helminthiasis in Mexican Farm Laborers. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 7:600-602.

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

SÔBRE UMA NOVA VARIEDADE DE PÊSSEGO CONTENDO AMIDO

J. B. FERRAZ DE MENEZES JÚNIOR (*)

Há três anos, aproximadamente, começamos a notar que algumas pessegadas submetidas a exame de rotina na Secção de Microscopia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz, davam ligeira reação de amido e exibiam, ao microscópio, células pequenas, arredondadas ou alongadas, com conteúdo amilífero alterado pelo calor.

À primeira vista parecia tratar-se de uma fraude comum e, para a sua constatação, procuramos identificar outros elementos histológico que deveriam acompanhar as referidas células amilíferas estranhas, encontradas de permeio com os elementos característicos do pêsego.

Vários testes foram realizados com aquelas pessegadas, tendo em mira encontrar estômatos, pêlos capitados, tubos de látex, células de tanino, vasos espiralóides e anelados grandes, vasos pontoados, reticulados e espiral-reticulados típicos, pertencentes ao chuchu, à abóbora, à banana e à batata-doce, substâncias que admitíamos serem as prováveis responsáveis pela suposta fraude, por possuírem células amilíferas de algum modo semelhantes às do produto suspeito.

Nada tendo sido encontrado como fonte orientadora para a identificação destas células amilíferas, fomos levados a crer na única possibilidade de serem provenientes de um novo tipo ou variedade de pêsego, ainda desconhecido em nosso meio.

Em vinte anos de trabalhos de rotina, estudos e experimentações no campo da microscopia de alimentos, nenhuma das formas, tipos e variedades de pêsegos conhecidos, por nós examinados, bem como seus respectivos produtos, jamais revelaram presença de amido.

(*) Químico do Instituto Adolfo Lutz.

Recebido para publicação em 12 de dezembro de 1958.

Na literatura especializada, por nós consultada, nenhuma referência encontramos a respeito, nem, tampouco, obtivemos informações favoráveis e satisfatórias nas fontes oficiais e junto aos especialistas no assunto, tanto em nosso Estado como no de Minas Gerais.

Para esclarecer êste caso e dada a importância de que o mesmo se reveste, no setor analítico oficial e industrial de contrôle, resolvemos continuar nossas observações e realizar um estudo sôbre o fruto.

MATERIAL E PARTE EXPERIMENTAL

De início tivemos dificuldade em encontrar o material necessário às nossas experimentações, pois, os vários tipos de pêssegos, existentes no mercado e por nós examinados, não continham amido.

Finalmente, pudemos localizar a procedência de tais frutos em Delfim Moreira, Estado de Minas Gerais, onde há grandes plantações de pêssegos.

Por especial obséquio do dr. Otello Moretti, químico da Companhia Industrial de Conservas Alimentícias "CICA", de Jundiaí, que também já havia observado êste fato no contrôle sistemático de polpas e produtos industrializados, obtivemos várias amostras de pêssegos daquela região e proveitosas informações, durante o longo período em que duraram nossos estudos e observações.

Caracteres principais do pêssego contendo amido — O fruto é de tamanho médio, forma oblongo-arredondada, polpa branco-amarelada, sutura não acentuada, ponta pouco saliente, não possui manchas vermelhas na casca, nem, tão pouco, ao redor do caroço, que é aderente à polpa. A característica principal é que, tanto os frutos verdes e verdoengos, como os francamente maduros, apresentam células amilíferas unicamente na região situada entre o hipoderma e as primeiras camadas do mesocarpo, sendo que o restante da polpa não mais contém amido.

Característica interessante — O referido pêssego, quando cru, não exhibe reação positiva de amido se lhe pusermos uma gota de lugol sôbre a casca, porém, neste mesmo ponto, retirada com uma navalha uma camada de espessura variando de 0,2 a 0,5 mm e juntando nova gota de lugol, iremos observar, depois de alguns segundos, uma leve reação azul que denuncia a presença de amido. Retirada nova camada, de idêntica espessura, no mesmo local onde se processou a reação, não mais obteremos a côr azul, ficando

comprovado que as células amilíferas se localizam unicamente nas porções periféricas do fruto. No fruto cozido, a reação de amido é verificada com bastante intensidade logo que uma gôta de lugol toque a sua superfície, sendo, portanto, desnecessário remover a casca para se obter a reação no hipoderma. Este fato é devido à transformação do amido em goma, pelo aquecimento do fruto em água e, à passagem, por osmose, de uma pequena porção de goma para a sua parte externa.

Fomos informados de que não há uma plantação regular dessa variedade de pessegueiro, achando-se os pés existentes, distribuídos irregularmente entre os demais, tornando-se difícil localizá-los pelos caracteres externos da árvore, muito embora a morfologia dos frutos forneça dados para a sua identificação. Ficou também esclarecido que, ao contrário do que sucede habitualmente, o fruto quanto mais desenvolvido e em estado de maturação mais adiantado, sofre, pelo lugol, a reação de amido com maior intensidade.

Amostra n.º 1 — Esta amostra foi recebida em março de 1956 e consistia de frutos cozidos, com casca, de tamanhos médio e pequeno, selecionados de vários lotes provenientes de Delfim Moreira. Vieram mergulhados na própria água em que foram fervidos. Não nos foram enviados frutos frescos por se achar bem distanciada, ainda, a época da safra, estando tôda produção acondicionada em latões, aguardando preparação do doce. O líquido dava reação de amido positiva e os frutos tomavam coloração azul-escura, irregularmente espalhada pela superfície.

Nesta ocasião, tiramos as microfotografias dos cortes histológicos obtidos desses pêssegos, correspondentes às figuras n.º 1 (corte transversal, em parafina), n.º 2 (corte transversal por congelção, sem reativo), n.º 3 (o mesmo corte com reação pelo lugol), e n.º 4 (desenho), para documentar a presença de amido nas células dos tecidos das primeiras camadas do pericarpo do referido pêssego.

Estrutura microscópica — A não serem as células amilíferas situadas, de modo característico e original, na periferia do fruto, os demais elementos histológicos nada diferem dos observados na fig. 5, correspondentes aos do pêssego *Prunus persica* e variedades conhecidas.

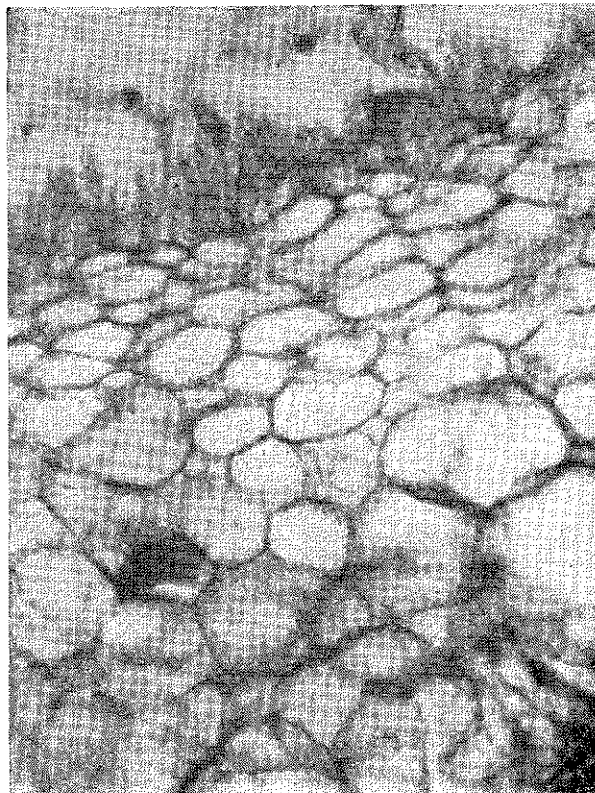


Fig. 1 — Corte transversal, em parafina (400 X).



Fig. 2 — Corte transversal, por congelação — sem reativo (200 X).

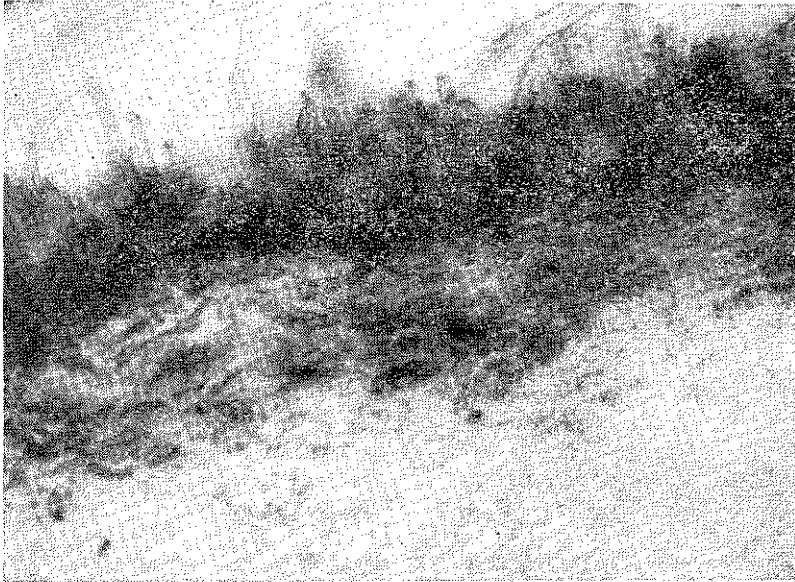


Fig. 3 — O mesmo corte com reação pelo lugol (200 X).

Estrutura microscópica do pêssago contendo amido — Pericarpo — a) células alongadas do hipoderma, de paredes ligeiramente onduladas, contendo grãos de amido muito pequenos e arredondados, quando no fruto cru e, em forma de pequenos blocos irregulares entre uma nuvem azulada, quando cozido e sob a ação do lugol; b) células isodiamétricas, de paredes lisas e grossas, das primeiras porções do mesocarpo, contendo, também, amido alterado pelo calor e sob a ação do lugol; c) célula das primeiras camadas do mesocarpo sem, entretanto, conter amido em seu conteúdo celular; d) célula grande, em forma de saco, de paredes grossas e lisas, sem amido e pertencentes à região mais interna da polpa.

Estrutura microscópica do pêssago comum — a) epicarpo com células poligonais, raros estômatos, numerosos pêlos ou tricomas unicelulares, curtos e longos, de paredes grossas, luz estreita e afilados no ápice e na base arredondada; b) hipoderma de paredes poligonais, nodosas, com espaços intercelulares nos ângulos; c) células do mesocarpo, isodiamétricas ou em forma de saco, contendo cristais em roseta e em agulhas; d) vasos espiralóides, pontoados e reticulados; e) esclerênquima; f) células pétreas, isodiamétricas

e alongadas do endocarpo (caroço); g) fibra cristalífera. Não contém amido.

Este desenho consta do nosso trabalho (MENEZES — 1949), onde já esclarecíamos que o pêssego *não continha amido*, a fim de orientar o analista quanto a possíveis fraudes em pessegadas, tal a certeza que tínhamos desta particularidade dos nossos pêssegos.

Amostra n.º 2 — Em janeiro de 1957, recebemos um caixote contendo pêssegos frescos, verdes e ligeiramente amadurecidos, menores que os da amostra n.º 1, porém sem a característica reação de amido. Mesmo assim, resolvemos enviar amostra ao Instituto Agronômico de Campinas solicitando classificação, dada a informação que tivemos, procedente de Delfim Moreira, de que tais pêssegos deviam ser idênticos aos da amostra n.º 1 e que, por um fenômeno qualquer, neste ano, se apresentavam menores e sem amido. Acreditamos que, em Delfim Moreira, não haviam, ainda, conseguido localizar os pessegueiros que produziam pêssegos contendo amido.

Do Instituto Agronômico de Campinas nos veio, por intermédio do Dr. Orlando Rigitano, chefe da Secção de Frutas de Clima Temperado, a seguinte informação: “Os pêssegos enviados são, ao que tudo indica, da variedade denominada “Abóbora”, disseminada por toda a região serrana do sul de Minas, onde é cultivada para industrialização. É chamado ainda “pêssego da Serra” e “Capoeira Amarelo”, sendo variedade de frutos médios, apresentando a película e a polpa amareladas, carne firme, com leve auréola de coloração avermelhada ao redor do caroço, que é prêsso à polpa. Com referência à presença de amido na polpa de pêssegos, tomamos a liberdade de transcrever, a título de colaboração, o seguinte trecho extraído do trabalho de Tukey & Lee (1940):



Fig. 5 — Elementos histológicos de *Prunus persica* (pêssego comum e variedades conhecidas) 200 x.

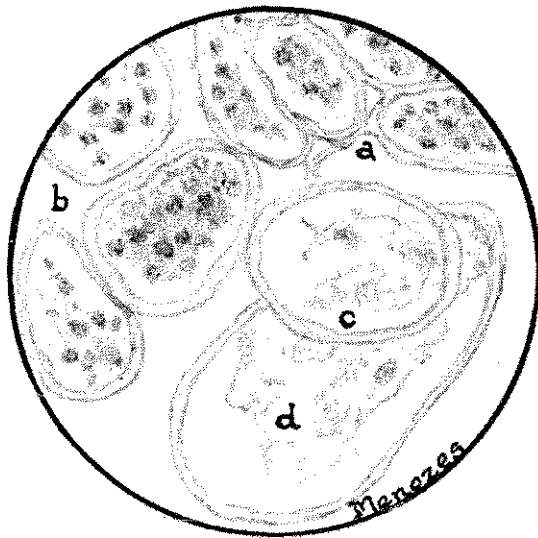


Fig. 4 — Pêssego cozido contendo amido (400 x) — Original

“Starch. — No starch was found in either the embryo, stony pericarp, or ripe fruit, although small amounts were found in the fleshy pericarp in early stages of fruit development when the fruit was still green. It was possible to secure a value for starch by some quantitative chemical methods for starch determination in tissues other than that of the green fleshy pericarp, but since no starch grains could be detected qualitatively, it is inferred that the value obtained is for some material other than starch. Possibly some of the values reported as starch by other workers may also be for some other material”.

A basear-se nessa informação, é provável que a presença de amido, ainda que em pequenas quantidades, nas pessegadas nacionais, possa ser explicada pela utilização de pêssegos verdes juntamente com maduros, no seu preparo, o que, aliás, se verifica, comumente, em nossas fábricas.”

Concordamos plenamente e temos longa observação de que em alguns frutos, tubérculos e sementes, o amido está presente nos tecidos somente nas primeiras fases de desenvolvimento, não sendo encontrado mais tarde, pela sua hidrólise e conseqüente transformação em dextrina e açúcar. Com os nossos pêssegos, entretanto, não tivemos oportunidade de verificar êste fato, motivo pelo qual, a não ser ultimamente, com o aparecimento desta nova variedade, jamais foi constatada a presença de amido nas pessegadas nacionais.

Até mesmo os autores citados, Tukey & Lee, acreditam na impossibilidade de se determinar, quantitativamente, o amido na polpa do pêssego, e, por não ser o mesmo encontrado, qualitativamente, em tecidos do fruto, os valores relatados, por alguns investigadores, *como amido*, devem ser, na realidade, atribuídos a outro material que não *amido*.

Amostra n.º 3 — Em maio de 1958, recebemos algumas latas de pêssegos cozidos, correspondentes aos da safra da Amostra n.º 1, visto ter a Cia. Cica deixado, de reserva, um latão de 20 quilos, com o fim especial de atender a solicitações de nossa parte para o prosseguimento de nossos estudos e experimentações. Êstes frutos foram selecionados, na Cia. Cica, pelo Dr. O. Moretti, de várias partidas de pêssegos procedentes de Delfim Moreira. Pelos caracteres organolépticos foi fácil separá-los dos demais, por apresentarem características diferentes dos demais pêssegos empregados na preparação da polpa destinada à fabricação de pessegada.

Dêste material, enviou-se amostra, com os devidos esclarecimentos, ao Instituto Agronômico de Campinas, para possível classificação, já que os pêssegos da amostra n.º 2 pareciam não corresponder à nova variedade estudada. Obtivemos a seguinte informação:

“A Secção de Microscopia Alimentar nos envia uma lata de um quilo e um vidro contendo pêssegos cozidos, procedentes de Delfim Moreira, os quais, segundo nos informa, mostram acentuada reação de amido mesmo quando os frutos estão maduros. A presença de amido tem sido comumente observada em frutos verdes apenas, de modo que, a se confirmarem as informações de que “os frutos maduros continuam a dar a reação de amido com igual ou maior intensidade”, tratar-se-ia, possivelmente, de um característico próprio de alguma nova variedade surgida na região. O aparecimento natural de novas variedades não é difícil em regiões como as em foco, onde a multiplicação se faz, via de regra, por meio de sementes.

Infelizmente, não temos elementos para informar a que possível cruzamento se deve essa nova variedade de pêssego, como deseja o interessado. Os nossos trabalhos de melhoramento de pessegueiro têm visado à criação de variedades mediante cruzamentos controlados entre pessegueiros de característicos desejáveis. Os híbridos obtidos são selecionados, notadamente, considerando-se a sua produtividade e os característicos organolépticos dos frutos. Feita essa seleção, o material considerado promissor é multiplicado por meio de propagação vegetativa, no caso, por meio de enxertia, a fim de serem conservadas as suas qualidades, para novas observações.”

Não tendo sido possível a classificação desta nova variedade de pêssego, resolvemos insistir, ainda, mais uma vez, em nossas observações, aguardando a próxima safra para, depois de se conseguir a localização dos respectivos pessegueiros na extensa plantação, recebermos amostras exclusivamente de pêssegos da variedade estudada.

A fig. 6, mostra em A o contorno do pêssego da “nova variedade” contendo amido em seu hipoderma, e em B, pêssego comumente utilizados na fabricação de pessegadas, com ausência de amido em seu pericarpo polpudo (variedade abóbora).

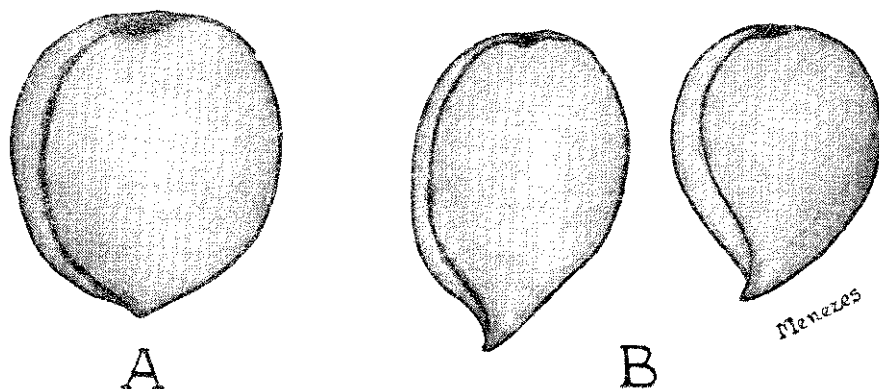


Fig. 6 — Caracteres externos dos dois tipos de pêsego (tamanho normal).

Amostra n.º 4 — Em princípios de Dezembro de 1958, recebemos, aproximadamente, mil pêsegos verdes, de todos os tamanhos, desde os muito pequenos, em fase inicial de desenvolvimento, até os de tamanho normal, começando a amadurecer, procedentes de vários setores de cultura de pêsegos de Delfim Moreira. Foram examinados cuidadosamente, tanto crus, como cozidos, apresentando-se, entre êles, somente três com células amilíferas em seus tecidos periféricos.

O fato de, na quase totalidade dos pêsegos verdes constantes da amostra n.º 4, não ter sido verificada a presença de amido em seu pericarpo polpudo, vem comprovar, mais uma vez, a nossa observação de longos anos, quanto à ausência de amido nas pessegadas examinadas. E a pequena porcentagem de pêsegos contendo amido, encontrada na amostra em questão, esclarece ser diminuto o número de pessegueiros da “nova variedade” existentes em Delfim Moreira.

Amostra n.º 5 — Ainda na segunda quinzena de dezembro de 1958, recebemos, como desejávamos, a fim de concluir nossas observações, numerosos pêsegos frescos, verdoengos e maduros com as características dos da “nova variedade”, selecionados na Companhia Cica, em Jundiá, pelo Dr. Otello Moretti, de uma grande quantidade de frutos procedentes de Delfim Moreira. Submetidos aos testes, já descritos anteriormente, êstes pêsegos não só deram reação positiva pelo lugol, em sua parte externa, como revelaram, ao microscópio, as referidas células amilíferas, típicas, na região do hipoderma.

Os pêsegos, constantes da amostra n.º 5, eram idênticos aos das amostras ns. 1 e 3, dos quais aproximadamente dois terços

davam reação de amido pouco acentuada, enquanto que, no t erço restante, a re a o era francamente positiva, principalmente quando cozidos.

Fica, portanto, esclarecido que, algumas pessegadas, quando preparadas com p essegos desta "nova variedade", podem apresentar re a o positiva de amido sem estarem fraudadas com frutos estranhos, como chuchu, ab obora, banana e batata doce, j a citados.

A identifica o microsc opica de todos os componentes de um doce em massa, como a pessegada,   perfeitamente poss ivel, pela histologia característica de cada substância presente no produto, razão pela qual, jamais haverá possibilidade de d vida ou dificuldade de interpreta o analítica, por não se encontrarem substâncias de origem vegetal com estruturas perfeitamente idênticas. Pode haver um detalhe estrutural comum a duas substâncias, como no caso dos blocos de células pétreas com células amilíferas radiais da pera e do marmelo. Entretanto, cada uma, de per si, possui elementos histológicos, t picos, encontrados, reciprocamente, numa e ausentes na outra, possibilitando apontar a presença do amido no produto examinado.

Nesta "nova variedade" de p essego s mente as células amilíferas do hipoderma apresentam ligeira semelhança com as do chuchu, banana, ab obora e batata doce, sendo os demais elementos histológicos perfeitamente idênticos aos do p essego comum.

Podemos assim afirmar que o p essego por nós estudado e que deu motivos   publica o dêste trabalho, constitui, de fato, uma "nova variedade" com a característica de possuir células amilíferas únicamente na região do hipoderma, fato êste s mente agora notado e cujo conhecimento   de inestimável valor no importante setor analítico de contr le e fiscaliza o de produtos alimentícios.

Sendo considerado uma "nova variedade" o p essego por nós estudado, propomos que seja denominado: *Prunus persica* var. Delfim Moreira pelo fato de ter sido o mesmo encontrado ou procedente, talvez, daquela região mineira.

RESUMO E CONCLUSÕES

O autor esclarece que a pessegada ou doce de p essego em massa, preparado industrialmente com p essegos verdes, jamais apresentou re a o positiva de amido em análises realizadas em quase vinte anos de trabalhos de rotina nos Laboratórios do Instituto Adolfo Lutz.

Notou que, ultimamente, as pessegadas, submetidas a exame microscópico, apresentavam células amilíferas do tipo das encontradas no chuchu, banana, batata doce, abóbora, sem, entretanto, estarem presentes os demais elementos histológicos típicos destas substâncias.

Concluiu, então, serem tais células amilíferas pertencentes a uma “nova variedade” de pêssego ainda desconhecida.

Depois de localizada a procedência de tais frutos em Delfim Moreira, Estado de Minas Gerais, o autor fez estudos e observações durante três safras seguidas.

O pêssego estudado possui as seguintes características: fruto de tamanho médio, forma oblongo-arredondada, polpa branco-amarelada, sutura não acentuada, ponta pouco saliente; não possui manchas vermelhas na casca, nem ao redor do caroço que é aderente à polpa. O amido, de tamanho diminuto, localiza-se nas células do parênquima correspondente ao hipoderma e primeiras porções do mesocarpo, numa espessura variando de 0,2 a 0,5 mm, estando ausente nas células dos demais tecidos da polpa. A reação se processa tanto nos frutos verdes como nos maduros e se faz mais intensa nos frutos cozidos.

O autor reconhece ser de grande importância analítica o conhecimento dos caracteres específicos desta “nova variedade” de pêssego, por não mais permitir suspeita de fraude nas pessegadas industrializadas com tais frutos.

Considerando o fruto estudado como uma “NOVA VARIEDADE” de pêssego, propõe o autor que seja o mesmo denominado: *Prunus persica* var. Delfim Moreira, por ser êste o local de sua procedência.

SUMMARY

STARCH GRAINS IN A NEW VARIETY OF PEACH

The Author reports that starch grains have never been found in the marmalades of green peaches analysed in the laboratories of the Instituto Adolfo Lutz within the last twenty years. However, it has been recently noted that under microscopic examination peach marmalades have yielded amylaceous cells similar to those of pumpkins, bananas, and sweet potatoes but without other typical histologic elements of these materials. It was discovered that these amylaceous cells belong to a still unknown new variety of peach.

After locating the source of this new peach variety in the city of Delfim Moreira, state of Minas Gerais, Brazil, the Author continued his observations and studies of the peaches, for three consecutive harvests.

The new variety has the following physical characteristics: A medium sized fruit, oblong round in shape with yellow-white flesh, the suture is not pronounced, a small protuberant tip and a lack of red skin or red spots around the stone. Very small grains of starch are localized at a thickness of 0.2 to 0.5 mm in the cellular parenchyma of the hypoderm and in the first portions of the fleshy pericarp. It is not found in the other cells of the flesh. The reaction is present in both green and ripe fruit and is most intense in the cooked fruit.

The Author stresses the above findings in order to avoid the suspicion of fraud in the marmalades of these fruit and proposes the name of *Prunus persica* var. Delfim Moreira for this new variety of peach.

AGRADECIMENTO

Deixamos aqui consignados os nossos melhores agradecimentos ao Dr. Otello Moretti, pelas numerosas e indispensáveis amostras de pêssegos que nos forneceu, e ao Dr. Orlando Rigitano, chefe da Secção de Frutas de Clima Temperado do Instituto Agronômico de Campinas, pelas proveitosas informações prestadas para a realização dêste trabalho.

BIBLIOGRAFIA

- LEE, F. A. & H. B. TUKEY — 1942 — Chemical changes accompanying growth and development of seed and fruit of the Elberta Peach. *The Botanical Gazette*, 104:348-355.
- MENEZES JÚNIOR, J. B. F. — 1949 — Investigações sôbre o exame microscópico de algumas substâncias alimentícias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 9:18-77.
- TUKEY, H. B. & F. A. LEE — 1940 — Growth and development of the embryo and fruit of the peach as affected by ringing and defoliation of the branches. *The botanical Gazette*, 101:818-838.

CONCEITOS ATUAIS DA ISOSPOROSE HUMANA

MARCELO O. A. CORRÊA (*)

Os coccídeos intestinais do gênero *Isospora* encontrados em fezes humanas pertencem a duas espécies distintas, *Isospora hominis* e *Isospora belli*, a caracterização e a denominação das quais foi inteiramente confundida pelos vários autores que se ocuparam do assunto até MEIRA & CORRÊA (1950), o esclarecerem definitivamente. A opinião dos referidos autores foi posteriormente adotada por ELSDON-DEW (1953), através de cujas publicações foi divulgada na Europa e na América do Norte.

Distribuição geográfica — Em 1935, MAGATH coletou 209 casos publicados na literatura; atualmente acima de 300 casos já foram comunicados. Embora de baixa incidência, a isosporose é largamente distribuída através do globo. Casos foram relatados no Egito, Iraque, Irão, Macedônia, Itália, Síria, Palestina, África do Sul, Nigéria, China, Nova Guiné, Okinawa, Papua, Venezuela, Argentina, etc.. Desde que haja interêsse especial na procura dos coccídeos, a incidência aumentará sempre.

No Brasil, foram descritos 28 casos por MEIRA & CORRÊA (1950), encontrados em 22.836 exames parasitológicos (1942 a 1950). A ocorrência de outros casos de isosporose humana em nosso país foi relatada por Machado (1936), Franco do Amaral, Rotondi (1947), Vasconcelos (1945), Pasqualin (1949), etc., *apud* PESSOA (1954).

QUEIROGA & GALVÃO (1958) relataram o encontro de três casos humanos de infestação por *Isospora belli* em Campina Grande, Paraíba; segundo os mesmos autores, a primeira comunicação de casos de isosporose humana, no nordeste, cabe a Ribeiro & Barbosa, em 1957.

(*) Médico-chefe da Secção de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz.

Recebido para publicação em 28 de dezembro de 1958.

De 1951 a 1957, dentre o total de 45.264 exames parasitológicos realizados no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, foram positivos, para *I. hominis*, 28 amostras e 15 para *Isospora belli*.

CARACTERIZAÇÃO DAS ESPÉCIES

1 — *Isospora belli* (Wenyon, 1923) — Eliminada geralmente sob a forma de oocistos com esporoblasto, único ou duplo, mais raramente sob a forma de oocisto com dois esporocistos. Cada esporocisto maduro contém 4 esporozoítos. Oocistos: 28,3 μ e 13,5 μ . Esporocistos: 12,9 μ x 10 μ .

2 — *Isospora hominis* (Railliet e Lucet, 1891) — Eliminada sob a forma de esporocistos isolados ou aos pares, sem oocisto.

Dimensões: 14,8 μ x 9,8 μ . Cada esporocisto contém 4 esporozoítos e massa granular residual.

CICLO VITAL — Na ausência de provas histopatológicas de casos humanos de isosporose, presume-se qual seja o ciclo vital dos coccídeos, no homem, por analogia ao que ocorre em animais. Após a ingestão, pelo homem, de oocistos (*I. belli*) ou de esporocistos (*I. hominis*), os esporozoítos seriam liberados ao nível do intestino delgado e penetrariam nas células epiteliais das vilosidades, multiplicando-se por esquizogonia (ciclo assexuado) ou por esporogonia (ciclo sexuado) com conseqüente formação de oocistos e ulterior eliminação pelas fezes, sob esta forma, no caso de *I. belli* ou sob a forma de esporocistos, no caso de *I. hominis*.

HITCHCOCK (1955) demonstrou experimentalmente a seqüência do ciclo vital de *Isospora felis* em gatinhos infetados experimentalmente, sacrificados diariamente e submetidos a minucioso estudo. Patenteou a ocorrência de dois ciclos assexuais e um sexual, sendo os oocistos eliminados a partir do 7.^o ou do 8.^o dias de infestação; todos os diferentes estádios de *I. felis* foram intracelulares — no interior das células epiteliais das vilosidades intestinais. Algumas formas assexuais foram encontradas no ceco e no intestino grosso.

EPIDEMIOLOGIA — Ainda por analogia se supunha que a infecção do homem processava-se através da via digestiva, pela ingestão de água ou alimentos que contivessem oocistos maduros de *I. belli* ou esporocistos de *I. hominis*. Tal suposição foi confirmada, experimentalmente, por MATSUBAYASHI & NOZAWA (1948), que se infetaram, também experimentalmente pela ingestão de coccídeos. A raridade da isosporose humana e o fato de aparentemente

curar-se espontaneamente, e de ser de curta duração, sugerem que algum hospedeiro sirva como reservatório — segundo o modo de ver de alguns autores, que, todavia, falharam nas tentativas de identificar os coccídeos em causa às espécies comuns a cães e gatos. Outros, entre os quais nos colocamos, julgam que o parasito é bem mais comum do que se pensa e que a existência de um hospedeiro reservatório não é necessário para a manutenção das infecções humanas.

PATOGÊNESE E SINTOMATOLOGIA — Conquanto nunca tenha sido observado à necropsopia caso algum de isosporose humana, é possível que a invasão das células epiteliais da mucosa intestinal pelos esporozoítos que nesta completam os ciclos assexuado e sexuado, cause lesões e destruição com conseqüente inflamação catarral da referida mucosa.

A infecção, assintomática em alguns casos — talvez na maioria deles — em outros se traduz por discreta diarréia, cólicas abdominais ou quadro disenteriforme.

MATSUBAYASHI & NOZAWA (1948), que se infetaram experimentalmente com oocistos de *Isospora belli*, apresentaram febre e diarréia no oitavo dia, perdurando a hipertermia por dez dias, sempre ao redor de 39° C, para desaparecer no 17.º dia, assim como o quadro intestinal, sem que tivesse sido empregada qualquer espécie de terapêutica.

BARSDALE & ROUTH (1948), que relataram 35 casos de isosporose humana dentre 2.000 soldados norte-americanos estacionados nas Filipinas, informaram que, quase todos, apresentavam sintomas intestinais, requerendo hospitalização: náuseas, anorexia, dor abdominal e diarréia.

Para se atribuir qualquer responsabilidade à *Isospora* encontrada no exame das fezes de um paciente com sintomatologia intestinal é necessário, evidentemente, afastar outros possíveis agentes etiológicos, a começar pelos agentes bacterianos (shigelas e salmonelas), assim como efetuar a prova terapêutica.

MEIRA & CORRÊA (1950), referem o caso de paciente de 35 anos que apresentava quadro grave de enterite crônica caracterizado por crises freqüentes de diarréia acompanhada de cólicas abdominais, datando de muito tempo; o exame físico demonstrou sensibilidade dolorosa dos segmentos cólicos à palpação. Vários e cuidadosos exames parasitológicos e bacteriológicos das fezes foram negativos, até que o exame revelou a presença de oocistos de *Isospora belli*,

achado êste confirmado em novo exame. A paciente foi medicada com metoquina (atebrina), três comprimidos diários durante cinco dias, em duas séries de tratamento intervaladas por dez dias, obtendo-se excelente resultado pois se restabeleceu completamente sendo negativos os sucessivos exames de contrôle efetuados.

TRATAMENTO — São indicadas drogas antimaláricas tais como a metoquina e o camoquin ou sulfaderivados, tais como a sulfadiazina. Evidentemente, a medicação sintomática deverá ser associada.

RESUMO

O Autor fêz uma revisão sôbre os conceitos atuais da Isosporose humana.

SUMMARY

NEWER CONCEPTS OF HUMAN ISOSPOROSIS

A review on the newer concepts of human Isosporosis is reported.

BIBLIOGRAFIA

BARSDALE, W. L. & C. F. ROUTH — 1948 — *Isoospora hominis* infections among american personnel in Southwest Pacific. *Amer. J. trop. Med.*, 28:639-644.

ELSDON-DEW, R. & L. FREEDMAN — 1953 — Coccidiosis in man: experiences in Natal. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 47: 209-214.

HITCHCOCK, D. J. — 1955 — The life cycle of *Isoospora felis* in the kitten. *J. Parasit.*, 41:383-391.

MAGATH, T. B. — 1935 — The coccidia of man. *Am. J. trop. Med.*, 15:91-129.

MATSUBAYASHI, H. & T. NOZAWA — 1948 — Experimental infection of *Isoospora hominis* in man. *Amer. J. trop. Med.*, 28:633-937.

MEIRA, J. A. & M. O. A. CORRÊA — 1950 — Isosporose humana. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 10:117-139.

PESSOA, S. B. — 1954 — Parasitologia médica. 4.^a ed. Rio de Janeiro, Livraria Editora Guanabara.

QUEIROGA, A. L. & P. G. GALVÃO — 1958 — *Isoospora belli*; três casos humanos encontrados na Paraíba. *An. Fac. Med. Recife*, 18:335-339.