

VOLUME 28

N.º UNICO

1968

**REVISTA**  
do  
**INSTITUTO**  
**ADOLFO LUTZ**

SECRETARIA DE ESTADO DA SAUDE PUBLICA  
INSTITUTO ADOLFO LUTZ  
S. PAULO - BRASIL

REVISTA  
DO  
INSTITUTO  
ADOLFO LUTZ

---

REDATOR RESPONSÁVEL

AUGUSTO DE ESCRAGNOLLE TAUNAY  
*Diretor do Instituto Adolfo Lutz*

SECRETÁRIA

DEBORA D. E. REBOCHO

COMISSÃO DE REDAÇÃO

JOSÉ CARLOS ARMINANTE  
JOSÉ PAULO G. LACERDA  
LUÍS FLORÊNCIO SALLES GOMES  
MÁRIO SCARPELLI  
WALDOMIRO PREGNOLATO

---

REDAÇÃO E ADMINISTRAÇÃO

BIBLIOTECA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

CAIXA POSTAL, 7027

SAO PAULO, S. P. — BRASIL

ENDEREÇO TELEGRÁFICO: IALUTZ

REVISTA ANUAL

TIRAGEM: 1 000 EXEMPLARES

REV. INST. ADOLFO LUTZ

# REVISTA

DO

## INSTITUTO

### ADOLFO LUTZ

Rev. Inst. Adolfo Lutz	São Paulo	v. 28	n.º único	1968
------------------------	-----------	-------	-----------	------

### CONTEÚDO

	Pág.
ARIOSTO BÜLLER SOUTO. Necrológio	VII
Concentrações das drogas em técnicas histológicas	
2. Estudo sobre Verhoeff para fibras elásticas	
<i>Reagents concentrations in histological techniques</i>	
2. <i>Study on Verhoeff</i>	
EVANDRO PIMENTA DE CAMPOS; ANTONIO JAMES BRANDI; NILZA BAPTISTA; ADRIANA MANGINELLI MASSIGNANI; MATHILDE TRIGO PIRES DE MESQUITA & REGINA CELIA MACHADO .....	1
Hemorragia maciça das cápsulas supra-renais na escarlatina (Síndrome de Waterhouse-Friderichsen na escarlatina)	
<i>Massive hemorrhage of the adrenals in scarlet fever (Waterhouse-Friderichsen syndrome in scarlat fever)</i>	
EVANDRO PIMENTA DE CAMPOS .....	5
Investigação sobre a ocorrência de leptospiroses em trabalhadores de diversas profissões no distrito sede do município de Sorocaba	
<i>An investigation on the occurring of leptospirosis among workers of several occupations in the municipal district of Sorocaba</i>	
MÁRIO CANDIDO OLIVEIRA GOMES; SABURO HYAKUTAKE & MARCELO OSWALDO ALVARES CORRÊA ...	19
Inibidores bacterianos, em especial a penicilina, no leite em pó de consumo da Capital	
<i>Bacterial inhibitors, with special reference to penicillin, present in powdered milk of S. Paulo, Brazil</i>	
ALEXANDRE MELLO FILHO; LAURO ALBANO SANDOVAL; NELSON REIS RODRIGUES; JOSÉ XIMENES & DANIEL BASTOS DE MATOS .....	27
Diagnóstico bacteriológico das salmonelas de origem animal, sua importância e frequência no município de São Paulo	
<i>Bacterial diagnosis of salmonellas of animal origin, its importance and frequency in São Paulo, Brazil.</i>	
AUGUSTO DE ESCRAGNOLLE TAUNAY .....	43

<p> <b>Apendicite aguda perforativa por infestação de <i>Trichocephalus trichiurus</i></b>  <i>Perforative acute appendicitis with infestation of Trichocephalus trichiurus</i>            JOSÉ CARLOS ARMIANTE &amp; EVANDRO PIMENTA DE CAMPOS .....         </p>	71
<p> <b>Meio de cultura para identificação presuntiva de bacilos Gram-negativos</b>  <i>Culture medium for presumptive identification of Gram-negative enteric rods</i>            ETTORE RUGAI &amp; AMAIR DE ARAUJO .....         </p>	79
<p> <b>Considerações em torno da epidemia de leptospiroses na cidade de Recife em 1966. Aspectos epidemiológicos, laboratoriais e clínicos</b>  <i>Leptospirosis: epidemiological, clinical and laboratory studies of an outbreak observed in Recife, Pernambuco, Brazil, in 1966</i>            RINALDO DE AZEVEDO &amp; MARCELO OSWALDO ALVARES CORRÊA .....         </p>	85
<p> <b>NOTICIÁRIO</b>            1.º SEMINÁRIO SOBRE PESTICIDAS .....         </p>	113

## AOS COLABORADORES

A REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ tem por finalidade a divulgação de trabalhos especialmente relacionados com as atividades laboratoriais em Saúde Pública.

### NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

Todos os artigos destinados à Revista deverão ser redigidos na ortografia oficial, apresentados em duas vias (original e primeira cópia), datilografados com espaço duplo em folhas de papel formato ofício, numeradas no ângulo superior direito, com margens de 3 cm de ambos os lados. As ilustrações (fotografias, desenhos, gráficos, fórmulas, equações, mapas e diagramas), legendas e rodapés deverão ser apresentados a parte, devidamente identificados, assinalando-se, no texto, onde deverão ser inseridos.

No preparo do texto, os autores deverão, sempre que possível, obedecer à seguinte ordem:

- Título em português
- Título em inglês
- Nome do autor ou autores (dados pessoais em rodapé)
- Resumo em inglês
- Introdução
- Material e métodos
- Resultados
- Discussão
- Conclusões
- Resumo em português
- Agradecimentos
- Referências bibliográficas

**TÍTULO** — Deverá ser breve e indicativo da exata finalidade do trabalho.

**RESUMOS** — Não deverão exceder 200 palavras. Deverão ser concisos e claros, pondo em relevo de forma precisa os fatos essenciais necessários à conclusão.

**ABREVIATURAS** — Serão evitadas, ou usadas apenas as que obedecem às normas nacionais ou, na falta destas, às internacionais. Os pesos e medidas (inclusive suas abreviaturas) deverão ser expressos no Sistema Métrico Decimal.

**REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS** — Deverão ser apresentadas somente as de trabalhos consultados ligados ao assunto e citados no texto. Havendo um único autor, será indicado o último sobrenome, seguido das iniciais do(s) prenome(s): BARBOSA, A. J. Quando a obra tem dois autores, mencionam-se ambos, na ordem em que aparecem na publicação, sempre o sobrenome antecedendo o prenome, ligados por "&": GOMES, J. A. & TOURAINE, M.M.A. Para mais de dois autores, quando a identificação da obra o exigir, mencionam-se todos, separados por ";": ROSENBERG, M.; YAKOVLEV, P. I.; van der HOEVE, J.; AMATO Neto, V.; VOGT, H. Quando a identificação da obra o não exigir, menciona-se o primeiro autor, seguido da expressão et alii: RACHOU, R. G. et alii.

No texto — serão numeradas, em ordem crescente, escritas em versal, com número alto ao lado do sobrenome do autor: ... segundo GOMES<sup>2</sup>.

Na lista de referências — serão ordenadas numericamente, de acordo com seu aparecimento no texto, como segue:

Para artigos

Sobrenome do autor (ou autores) seguido das iniciais, título do trabalho, título do periódico (abreviaturas no "World List of Scientific Periodicals"), volume, número, página inicial e final e ano de publicação. Ex:

MALLORY, F. B. — Cirrhosis of the liver. Five different types of lesions from which it may arise. Bull. Johns Hopk. Hosp. 22:69-75, 1911.

## Para livros

Sobrenome do autor (ou autores ou editor responsável) seguido das iniciais, título, edição, tradução (se for o caso), local de publicação, editor comercial, ano de publicação, número do volume, página(s) citada(s).

AMATO Neto, V.; CAMPOS, R.; FERREIRA, C. C. — Diagnóstico das parasitoses intestinais pelo exame de fezes. 2.<sup>a</sup> ed. São Paulo, Atheneu, 1963. p. 125.

**ILUSTRAÇÕES** — Deverão ser citadas no texto como "Fig.", numeradas e vir acompanhadas de legendas explicativas. Os desenhos, gráficos, fórmulas, equações, mapas e diagramas deverão ser feitos a nanquim preta, em papel vegetal e confeccionados de modo a poderem ser reduzidos na clichéria a 1/2 ou 1/3 do tamanho original, sem perda de nitidez ou legibilidade. As fotografias serão apresentadas em envelope a parte; deverão ser nítidas e de bom contraste, e trazer no verso o nome do autor, título do artigo e número com que irão figurar no texto.

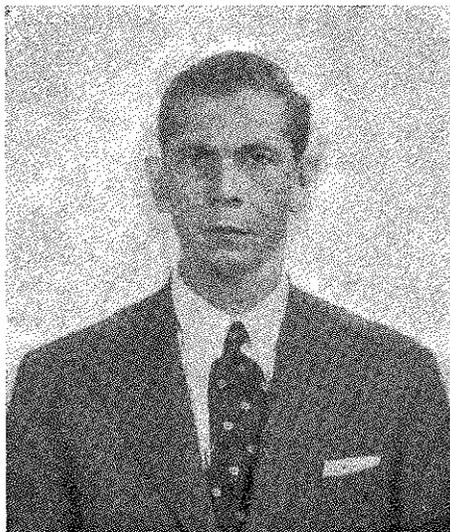
**QUADROS E TABELAS** — Não deverão exceder as dimensões do texto da Revista. Os respectivos títulos deverão indicar claramente o conteúdo; se possível, seguir as normas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Nenhuma casa, em quadros ou tabelas, deverá ficar vazia; a ausência de dados será representada por:

- quando o fenômeno não existe
- 0; 0,0; 0,00 quando o fenômeno existe, não atingindo o seu valor, porém, a unidade adotada no quadro
- ... quando o dado é desconhecido, não implicando, porém, afirmar ou não a existência do fenômeno.

Quando o fenômeno for mensurável, deverá ser expresso de maneira a somente figurarem os algarismos significativos.

## DA PUBLICAÇÃO

1. A publicação de artigos na Revista está condicionada à aprovação da Comissão de Redação.
2. Na publicação do artigo, constará obrigatoriamente, em rodapé, a data de recebimento.
3. Os originais de trabalhos aceites para publicação não serão devolvidos aos autores.
4. Os autores terão direito a 70 separatas; quando desejarem maior número, deverão entender-se com a secretária da Revista.
5. No caso de mais de um autor, deverá ser expressamente indicado o responsável pela publicação.
6. Solicita-se aos autores indicarem o endereço para correspondência.
7. É proibida a reprodução no todo ou em parte de trabalhos publicados na Revista, sem prévia autorização do autor responsável e da Comissão de Redação da Revista. É permitida, entretanto, a reprodução de resumos, com a devida citação bibliográfica.



**A R I O S T O B Ü L L E R S O U T O**

*É com profunda mágoa que esta Revista abre as páginas dêste número para prestar homenagem póstuma ao seu antigo redator-responsável, Ariosto Büller Souto, falecido no dia 22 de dezembro de 1967, na cidade de Nova York, onde se encontrava em tratamento de saúde.*

*Nasceu no dia 7 de fevereiro de 1910, na cidade paulista de São Manoel; foram seus progenitores Joaquim Ferreira Souto e Catarina Büller Souto.*

*Fez seus estudos preliminares no Colégio São Luiz de São Paulo (1922-1965) e no Colégio São Joaquim de Lorena (1925-1927). Coursou a Faculdade Nacional de Medicina da Universidade do Brasil (Rio de Janeiro) de 1927 a 1932, especializando-se, nos anos de 1932 a 1934, no Instituto Oswaldo Cruz (Manguinhos), Rio de Janeiro, em Físico-química, Bacteriologia, Imunologia, Virulogia, Micologia e Zoologia Médica. Foi interno, por concurso, da Cadeira de Propedêutica Médica (Semiologia) da Faculdade Nacional de Medicina da Universidade do Brasil (1930-1932); chefe do Laboratório da 3.ª Enfermaria de Clínica Médica do Hospital São Francisco de Assis, Rio de Janeiro (1929-1934); assistente extranumerário e monitor de Semiologia da Faculdade Nacional de Medicina da Universidade do Brasil (1932-1934); interno, por concurso, do Hospital de Pronto Socorro e da Assistência Pública da Prefeitura do Distrito Federal (1930-1932); químico registrado sob número 225 a fôlhas 114 do Livro I do Registro de Químicos Licenciados do D.N.T.; assistente do Instituto Butantan (1937-1940); assistente do Instituto Adolfo Lutz (1940-1946); chefe da Secção de Sorologia do Instituto Adolfo Lutz (1949-1950); diretor do Instituto Adolfo Lutz (1950-1967).*

*Foi presidente da Comissão de Padronização Farmacêutica na revisão da 2.ª edição da Farmacopéia Brasileira.*

*Foi membro da Comissão Permanente de Aditivos para Alimentos (1961-1967) e membro titular da Comissão de Aditivos para Alimentos da União Internacional de Química Pura e Aplicada (1965-1967).*

*Foi consultor da Repartição Sanitária Panamericana em Washington, no ano 1963 e dos países da América Central, nos anos de 1963 a 1965, para o estabelecimento de Normas de Qualidade de Alimentos, e assessor da Comissão Permanente de Laboratórios de Saúde Pública da Organização Mundial de Saúde, em Genebra, nos anos de 1965-1966.*

*Foi membro titular das seguintes sociedades científicas: Sociedade de Farmácia e Química de São Paulo; Associação Brasileira de Química; Associação Paulista de Medicina; Sindicato Médico de São Paulo; Associação Médica Brasileira; Sociedade Geográfica Brasileira; Sociedade Brasileira de Microbiologia; Sociedade Brasileira de Biologia; "Royal Society of Medicine", London (England); "Institute of Food Technologists", Chicago (U.S.A.); "American Standards Association", New York (U.S.A.) e "National Geographic Society of Washington" (U.S.A.).*

*Representou o Brasil em vários congressos internacionais, entre os quais: 5.º Congresso Internacional de Microbiologia (Roma); 8.º Congresso Internacional de Cancer (Moscou); "National Conference of Standards" da "American Standards Association" (Washington) e "Institute of Food Technologists Annual Meeting" (Chicago).*

*Deixou cerca de cinquenta trabalhos publicados referentes a análises técnicas e especializadas e a assuntos referentes a Legislação.*

## CONCENTRAÇÕES DAS DROGAS EM TÉCNICAS HISTOLÓGICAS

### 2. Estudo sobre Verhoeff para fibras elásticas <sup>(1)</sup>

#### REAGENTS CONCENTRATIONS IN HISTOLOGICAL TECHNIQUES

##### 2. Study on Verhoeff

EVANDRO PIMENTA DE CAMPOS <sup>(2)</sup>  
ANTONIO JAMES BRANDI <sup>(2)</sup>  
NILZA BAPTISTA <sup>(2)</sup>  
ADRIANA MANGINELLI MASSIGNANI <sup>(2)</sup>  
MATHILDE TRIGO PIRES DE MESQUITA <sup>(2)</sup>  
REGINA CÉLIA MACHADO <sup>(2)</sup>

#### SUMMARY

An excellent staining of the elastic fibers in a bluish black color is obtained when the solution of Verhoeff is used with lower concentrations of Hematoxilin. The muscular layer stains in green and the collagen fibers in pink as usually. The method was applied to sections from autopsy organs (kidney, lung, aorta).

#### INTRODUÇÃO

Provamos em trabalho anterior <sup>1</sup> que a coloração de gorduras em tecidos, pelo Sudan IV e Hematoxilina de Ehrlich, pode ser obtida de forma bem nítida usando concentrações, destes corantes, mais baixas do que as geralmente recomendadas. Animados pelos resultados obtidos, fizemos este trabalho, agora sobre o método de Verhoeff.

Verificamos que as fibras elásticas se coram perfeitamente bem mesmo quando se baixa, de maneira considerável, a concentração do corante Hematoxilina que entra na preparação, pela técnica de Verhoeff <sup>2</sup>. Na solução de Picro-Ponceau, substituímos o Ponceau S, CI 27195, pelo Ponceau 3 R.

#### MATERIAL

Utilizamos material obtido de necrópsias efetuadas na Diretoria de Patologia do Instituto Adolfo Lutz, constituído por fragmentos de rim, aorta e pulmão.

#### Drogas empregadas

##### 1) Fixadores

Qualquer fixador pode ser usado, mas nós demos preferência aos seguintes:

a) Formol a 10%. Mistura de Formalina (aldeído fórmico a 40%). Água destilada (10:90, V/V).

##### b) Zenker

Água destilada . . . . .	1 000 ml
Cloreto mercúrico ou bicloreto de mercúrio . . . . .	50 ml
Bicromato de potássio . . . . .	25 ml
Sulfato de sódio (este sal atualmente está sendo omitido <sup>3</sup> ) . . . . .	10 g

Recomendamos dissolver o cloreto de mercúrio em água destilada a quente e, posteriormente, juntar o bicromato de potássio e o sulfato de sódio. No momento de usar, juntar 5 ml de ácido acético glacial a 95 ml da solução de Zenker.

Usando este fixador (b), os blocos devem ser lavados após fixação por 24 horas em

(1) Trabalho realizado na Seção de Anatomia Patológica da Diretoria de Patologia do Instituto Adolfo Lutz.

(2) Do Instituto Adolfo Lutz.

água corrente, seguindo-se depois a desidratação normal. As lâminas, após desparafinização e desidratação, não necessitam ser passadas pelo iodo para se retirar o bicloreto de mercúrio, como usualmente, porque o corante de Verhoeff na sua fórmula contém uma solução aquosa de iodo.

## 2) Soluções

### a) Solução Verhoeff

Dissolver a quente, usando fogareiro elétrico com resistência coberta ou estufa a 40°C, 0,7 g de Hematoxilina (preferivelmente em cristal, marca Harleco) em 66 ml de álcool etílico absoluto. Deixar esfriar até o dia seguinte e filtrar. Retirar 33 ml desta solução e juntar 12 ml de cloreto de ferro a 10% e 12 ml da solução de iodo de Verhoeff.

A solução fica assim diluída quatro vezes mais do que a solução de Verhoeff original.

*Nota* — A fim de que a solução de Verhoeff tenha uma duração mais longa, sugerimos guardá-la em congelador.

### b) Solução Iodo de Verhoeff

Iodeto de potássio (KI) ...	4 g
Água destilada .....	100 ml
Iodo metálico .....	2 g

Todo o iodeto de potássio (4 g) é colocado em 3 ml de água destilada e a esta são adicionadas as 2g de iodo metálico, que se dissolvem totalmente. O volume é, então, completado para 100 ml, com água destilada.

### c) Solução de cloreto de ferro a 10%

Cloreto de ferro (Fe Cl <sub>2</sub> ) ..	10 g
Água destilada .....	100 ml

### d) Solução de cloreto de ferro a 2%

Solução de cloreto de ferro a 10% .....	20 ml
Água destilada .....	100 ml

### e) Solução Picro-Ponceau

Ponceau 3 R (Harleco) ....	10 g
Solução aquosa saturada de ácido pícrico .....	86 ml
Ácido acético glacial a 1% aquoso .....	4 ml

## MÉTODOS

### Técnica para cortes em parafina

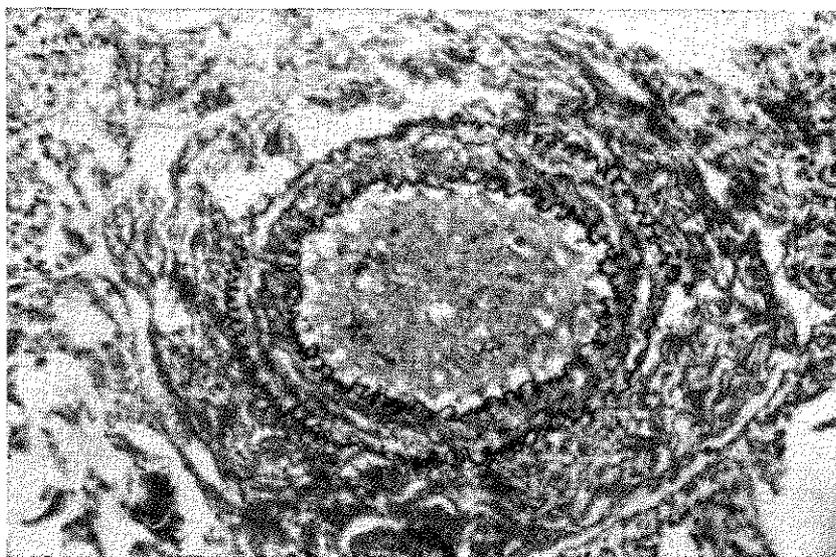
1. Cortes de 6  $\mu$ .
2. Desparafinizar (xilol, 5 min; xilol, 5 min).
3. Passar em álcool 100%; 95%; até 70%.
4. Corar na solução de Verhoeff (solução a) durante 15 minutos.
5. Lavar em água destilada.
6. Diferenciar na solução de cloreto de ferro (d), poucos minutos. Controlar a coloração no microscópio onde as fibras elásticas devem aparecer pretas e os núcleos, castanhos. Caso o tempo de diferenciação tenha sido muito prolongado, recolorem-se na solução Verhoeff (a) por algum tempo (5 a 10 minutos).
7. Colocar as lâminas em tiosulfato de sódio a 5%, aquoso, 1 minuto.
8. Lavar em água corrente de 5 a 10 minutos.
9. Sobrecorar na solução Picro-Ponceau (e) durante 1 minuto.
10. Diferenciar em duas porções de álcool a 95%, poucos segundos.
11. Desidratar em álcool absoluto.
12. Enxugar as lâminas em papel de filtro com o corte voltado para baixo.
13. Passar no xilol, outra vez no xilol e montar em bálsamo do Canadá.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As fibras elásticas do conjuntivo são evidenciadas por métodos que contêm o corante Orceína, como o de Unna-Orceína e outros; estes são de difícil execução e, por este motivo, preferimos estudar o método de Verhoeff pois, além de dar os mesmos resultados, é de mais fácil execução.

O corante de Verhoeff é usado para evidenciar fibras elásticas; neste método, entra como corante principal a Hematoxilina.

A solução de Hematoxilina (3 g de Hematoxilina em 66 ml de álcool absoluto), após resfriamento, apresentava grande depósito na filtração. O depósito foi secado na estufa e nova solução foi feita para verificar se poderíamos aproveitar o corante. Notamos,



Artéria de pequeno calibre, do pulmão, destacando-se as limitantes elásticas interna e externa. Verhoeff modificado. 160 X.

porém, que o corante seco e novamente diluído dava uma coloração manchada das fibras elásticas, perdendo a nitidez. Pensamos então em baixar a concentração da solução de Hematoxilina para 1 g/66 ml de álcool etílico absoluto, mantendo as outras drogas na mesma concentração. As lâminas coradas com essa concentração mais baixa de Hematoxilina apresentaram fibras elásticas bem evidenciadas em preto azulado escuro. Continuamos baixando a concentração de Hematoxilina para 0,7 g/66 ml de álcool etílico 100% e obtivemos os mesmos resultados que usando a solução de Hematoxilina na sua fórmula original.

Utilizando-se a concentração por nós determinada, obtêm-se as seguintes vantagens.

1. Evita-se o desperdício da Hematoxilina em cristal, marca Harleco, que é um corante difícil de se achar, pelo menos no nosso meio.

2. As fibras elásticas que se encontram em redor dos grandes e pequenos vasos se apresentam bem coradas em preto azulado, nítidas e isoladas, distinguindo-se bem a camada muscular em verde amarelado, localizada entre as fibras elásticas internas e externas, e a camada das fibras de colágeno, em rosa bastante intenso, conforme se observa na figura.

3. Outro fator importante na técnica de Verhoeff é que seu corante parecia ter, conforme HUMASON<sup>2</sup> e LILLIE<sup>4</sup>, duração de apenas duas a três semanas. Verificamos porém que, colocando o reativo no congelador, este se conserva bem pelo menos um ano e quatro meses, agindo perfeitamente bem, nada perdendo na sua intensidade; usando-se menor quantidade de corante para prepará-lo, não haverá desperdício.

### CONCLUSÕES

Empregando-se a solução de Verhoeff preparada com uma solução de Hematoxilina cristal (marca Harleco) diluída a 0,7 g em 66 ml de álcool etílico absoluto, obtêm-se idênticos resultados aos apresentados pela solução clássica de Verhoeff usualmente indicada e utilizada.

### RESUMO

Uma excelente coloração das fibras elásticas em preto azulado é obtida quando a solução de Verhoeff é usada com concentrações mais baixas de Hematoxilina — 0,7 g em 66 ml de álcool etílico absoluto — do que as usualmente empregadas.

A camada muscular cora-se como sempre em verde amarelado e as fibras de colágeno, em rosa.

O método foi aplicado a cortes de órgãos provindos de necrópsias (rim, pulmão, aorta).

*Agradecimentos* — Aos Dr. José Carlos Arminante, Dra. Laura Comette Taborda, Dr. Oscar de Souza Lopes, Dra. Yolanda Tavares e Sra. Flávia Echuya.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CAMPOS, E. P.; BAPTISTA, N.; MASSIGNANI, A. M. & MESQUITA, M. T. P. — Concentrações das drogas em técnicas histológicas. 1. Estudo sobre Sudan IV. Rev. Inst. Adolfo Lutz 25/27:65-8, 1967/68.
2. HUMASON, G. L. — Animal tissue techniques. S. Francisco, W. H. Freeman, [c1962] p. 166.
3. LILLIE, R. D. — Histopatologic technic and practical histochemistry. New York, Mc Graw-Hill [c1965] p. 51.
4. LILLIE, R. D. — Histopatologic technic and practical histochemistry. 3. ed, New York, Mc Graw-Hill [c1965] p. 551.

*Recebido para publicação em 11 de janeiro de 1968.*

# HEMORRAGIA MACIÇA DAS CÁPSULAS SUPRA-RENAIS NA ESCARLATINA

(Síndrome de Waterhouse-Friderichsen na escarlatina)

MASSIVE HEMORRHAGE OF THE ADRENALS IN SCARLET FEVER  
(Waterhouse-Friderichsen syndrome in scarlet fever)

EVANDRO PIMENTA DE CAMPOS

## SUMMARY

A case of scarlet fever in eight year child with massive hemorrhage was studied. Based on the symptoms observed and the anatomopathological lesions found this is a case of the Waterhouse Friderichsen Syndrome.

This is the first reference in the medical literature of the syndrome in scarlet fever.

Recording the results of the necropsia, the most important findings were, a wide and bilateral adrenal lesion, an intensive capillar congestion with small spots of hemorrhage, specially in arachnoide where no inflammations process was found.

## I — INTRODUÇÃO

A escarlatina é uma moléstia aguda, exsantemática, cujo agente causador é o estreptococo beta-hematólico, produtor de uma toxina lesiva para os capilares sanguíneos — a toxina eritrogênica.

Integra, pois, o grupo de moléstias infecciosas causadas por agentes bacterianos que produzem toxinas responsáveis por diferentes lesões encontradas nas vísceras do organismo humano, no transcorrer da enfermidade. Essas toxinas podem lesar, de maneira irremediável, as glândulas supra-renais, conduzindo o indivíduo à morte, de forma fulminante. O síndrome de Waterhouse-Friderichsen consequentemente pode ser constatado também na escarlatina; esta parece ser a primeira constatação na literatura médica. Este síndrome foi reconhecido em 1901 por Little segundo citação de AEGERTER<sup>1</sup>, com apresentação de quatro casos próprios e revisão de outros oito casos

que eram considerados como entidade não classificada. Somente em 1911, WATERHOUSE<sup>2</sup>, na Inglaterra, apresentou um caso próprio de "apoplexia" da supra-renal, com cultura bacteriológica negativa e fez a revisão de outros quinze casos, não classificados, descrevendo o síndrome, com seus sinais clínicos e anatomopatológicos; em 1918, FRIDERICHSEN <sup>apud</sup> 1, na Alemanha, apresentou dois casos próprios e a revisão de onze casos de Little e de mais dezesseis casos citados na literatura. Antes de Little, segundo KUNSTADTER<sup>3</sup>, que fez a revisão bibliográfica até 1939, a primeira comunicação sobre hemorragia das supra-renais foi de Voelcker, em 1894, seguindo-se as de Garrod e Drysdale em 1898, Batte, Andrewes, ambos em 1898, e Talbot, com dois casos em 1900. Até 1939, segundo esse mesmo autor, havia na literatura 73 casos, sendo 26 nos Estados Unidos dos quais 21 casos foram relatados depois de 1927.

(1) Trabalho realizado na Diretoria de Patologia do Instituto Adolfo Lutz (Dr. Evandro Pimenta de Campos).

Em 1930, SEEBER<sup>4</sup>, apresenta um caso de septicemia meningocócica fulminante com púrpura cutânea e hemorragia bilateral das supra-renais.

Em 1936, FOUCAR<sup>5</sup>, apresenta outro caso idêntico ao anterior, em adulto de 20 anos, com morte após 12 horas do início dos sintomas, clinicamente diagnosticado com febre maculosa (Rocky mountain spotted fever), esclarecido pela necrópsia como meningococemia fulminante com hemorragia das supra-renais. Havia presença de meningococo na aracnóide, sem reação inflamatória.

Em 1933 GLANZMANN<sup>6</sup>, relata várias observações, de outros autores, de crianças de menor de dois anos que faleceram rapidamente, encontrando-se púrpura cutânea e hemorragia de ambas as supra-renais, acompanhados de aumento do volume do timus; descreve em seguida caso próprio, de criança de dois anos, com início súbito, aparecimento de petéquias e sufusões hemorrágicas da pele, cianose e morte. A autópsia mostrou hemorragia maciça de ambas as supra-renais, com hiperplasia do tecido linfóide e congestão generalizada; pesquisa de bactéria, negativa (direto e cultura), e ausência de lesão meníngea.

Entre nós, ainda em 1935, FONSECA<sup>7</sup> apresenta um caso fatal de púrpura fulminante, em criança de 2 anos de idade; a nosso ver, parece estar incluída no síndrome, faltando dados bacteriológicos e anatomopatológicos.

Em 1936 AEGERTER<sup>1</sup> apresenta dois casos próprios com sintomatologia semelhante à verificada nos casos citados na literatura, e achados anatomopatológicos também semelhantes, evolução rápida para a morte, em menos de 24 horas após os sintomas iniciais, cultura positiva para meningococo e hemorragia bilateral das supra-renais, nos dois casos.

Em 1938, WEINGART<sup>8</sup> descreve um caso de meningococemia fulminante, em criança de 3 anos de idade, com hemorragia em ambas as glândulas supra-renais, referindo que naquela ocasião já poderiam ser contados cerca de sessenta casos semelhantes referidos pelos médicos. Também foi isolado o meningococo de sangue aspirado do coração, durante a necrópsia, enquanto o liquor céfalo-raquidiano não acusava alterações importantes, apenas hipercitose (40 células/mm<sup>3</sup>).

Fox & ENZER<sup>9</sup>, em 1938, apresentam quatro casos de púrpura após a *escarlatina*, sem lesões das supra-renais e acentuam que antes dessa data, em treze anos de clínica em doze mil casos de escarlatina, apenas se constataram dois casos de púrpura. Não há, pois, referência do síndrome de Waterhouse-Friderichsen na escarlatina.

Em 1939, Kunstadter apresenta um caso de criança de 12 dias que, após paracentese em ambos os ouvidos, com saída de exsudato purulento, apresenta um quadro grave de púrpura disseminada, petéquias e áreas de hemorragia, acompanhada de cianose, elevação térmica acentuada e morte em choque após 3 horas do início dos sintomas. A necrópsia confirmou o diagnóstico clínico de síndrome de Waterhouse-Friderichsen, com o encontro de equimose generalizada, cianose da pele, hemorragia de ambas as supra-renais e congestão generalizada (pulmões, rins) tendo sido cultivado meningococo do sangue recolhido durante a necrópsia.

Em 1940, HUGHES<sup>10</sup> apresentou um caso de septicemia fulminante com hemorragia das supra-renais em criança de dez semanas, causada por meningococo, notando-se congestão intensa das meninges sem reação inflamatória; o quadro clínico possibilitava sua inclusão no síndrome em questão.

Em 1943, HERBERT & MANGES<sup>11</sup> apresentaram 4 casos, o primeiro, criança de 8 anos, que morreu após 15 horas do início dos sintomas — elevação rápida da temperatura, taquipnéia (60 r/m), pulso rápido (160 b/m), púrpura hemorrágica, seguida de equimose, ausência de sinais meníngeos, glóbulos brancos 6 100/mm<sup>3</sup> e, no líquido céfalo-raquidiano, apenas 18 células/mm<sup>3</sup>; agravamento rápido do quadro, aparecimento de cianose, e morte. A necrópsia revelou erupção cutânea, congestão dos pulmões, fígado e baço, aumento do timus, com 25g, e dos gânglios linfáticos. Ambas as supra-renais com hemorragia difusa com infiltração de leucocitos. A cultura do sangue retirado do ventrículo direito foi positiva para bacilo do grupo Friedländer. Os cortes histológicos da pele, supra-renal, fígado, pulmão e medula óssea foram corados para identificação de bactérias, tendo sido encontrados diplococos morfológicamente semelhantes ao meningococo, nos vasos da pele e tecido peri-adrenal.

O segundo caso, uma criança bem nutrida, de oito meses de idade, com aparecimento súbito de petéquias e áreas de equimose acompanhando hipertermia, dispnéia e taquipnéia, taquicardia, cianose das extremidades, ausência de sinais meníngeos, leucocitose ( $26\,000/\text{mm}^3$ ). Morte após 19 horas do início dos sintomas. A necrópsia mostrou hemorragia de ambas as supra-renais, petéquias e sufusões hemorrágicas em vários tecidos, congestão das vísceras; as meninges intensamente congestionadas, porém, ausente o exsudato inflamatório. Microscopicamente, encontravam-se alguns leucócitos, inclusive, polimorfonucleares. Os cortes de pele, fígado, pulmão, baço, intestino, medula óssea foram corados para pesquisa de bactérias, sendo encontrados numerosos diplococos Gram-negativos, com características de meningococo, extra e intracelular, nos vasos trombosados da pele. Na cultura do sangue recolhido durante a necrópsia, cresceu estafilococo áureo. A cultura do liquor céfalo-raquidiano foi negativa.

O terceiro caso, criança de 18 meses, bem nutrida, faleceu rapidamente, antes da feitura da observação, com sinais clínicos semelhantes aos dos dois anteriores. Os achados de necrópsia foram: púrpura hemorrágica, hemorragia das conjuntivas, cianose das extremidades e mucosas, e hemorragia das supra-renais (córtex e medular) com presença de polimorfonucleares; acentuada congestão dos vasos das meninges, ausência de exsudato. Do sangue recolhido do coração e do líquido céfalo-raquidiano foram obtidas culturas de diplococo Gram-negativo com características de meningococo. Nos cortes histológicos apenas no pulmão se encontraram diplococos.

No quarto caso, criança de 14 meses de idade, bem nutrida, com sintomas semelhantes aos dos casos anteriores, acrescidos de convulsões; o liquor céfalo-raquidiano com  $890/\text{mm}^3$  células e cultura positiva para meningococo, assim como a cultura feita com material do naso-faringe. A criança faleceu 33 horas após o início dos sintomas, apesar do tratamento com sulfadiazina. Início da doença com vômitos alimentares, depois coriza, tosse, agitação, choro alto. Duas horas após, rigidez no corpo, sem rigidez de nuca, e convulsões; apatia, e aparecimento de petéquias. Leucopenia ( $3\,200/\text{mm}^3$ ) e hiperleucocitose ( $960/\text{mm}^3$ ) no liquor, com 55% de neutrófilos; diplococos Gram-negativos intra e extra-celulares; a cultura do liquor, posi-

tiva para meningococo, tipo I. A hemocultura, negativa. A temperatura final era alta ( $41,5^\circ\text{C}$ ), quando a criança faleceu. A necrópsia mostrou petéquias disseminadas, timus, com 15 g. gânglios linfáticos aumentados, hiperplasia da polpa branca e congestão do baço e dos pulmões, com pequenas áreas de hemorragia, edema do encéfalo, meninges congestionadas e livres de exsudato. A supra-renal direita, com pequenas áreas de hemorragia, e a esquerda, ligeiramente congestionada. Ao exame microscópico se verificou acentuada congestão do capilar do derma, meningite com infiltrado perivascular linfoplasmocitário, sem hemorragias ou trombose capilar. Supra-renal esquerda com focos de hemorragia na medular; cortical conservada. Supra-renal direita com áreas de hemorragia maiores, atingindo ambas as camadas, ausência de neutrófilos. Alguns eosinófilos no timus. Leptomeninge congestionada com infiltrado de neutrófilos. Células motoras com alterações do tipo tóxico. Nos cortes histológicos foram encontrados diplococos Gram-negativos somente nos capilares do córion da pele.

Em 1947, BARBOSA<sup>12</sup> apresenta 4 casos, sendo 3 fatais (2, adultos jovens e 1, criança de 4 anos) e um caso curado com associação de sulfatiazol-sulfadiazina-penicilina e desoxicorticoesterona. Nos 4 casos foram isolados diplococos Gram-negativos (*Neisseria meningitidis*).

Em 1948, entre nós, NEVES *et alii*<sup>13</sup> apresentaram 3 casos; o primeiro, em jovem de 17 anos, com sinais clínicos do síndrome e ligeira rigidez de nuca, porém, cultura negativa do líquido céfalo-raquidiano, inicialmente; após 24 horas, liquor purulento, porém cultura negativa. O hemograma apresentava reação leucemóide, e quadro supurativo. A pressão arterial, de 80/50 mmHg, caiu para zero. Mielograma de quadro infeccioso, com reação eosinófila. A cultura continuou negativa e o paciente faleceu, apesar da medicação (antibióticos e desoxicorticoesterona). A necrópsia mostrou petéquias e sufusões hemorrágicas generalizadas da pele e serosas dos órgãos internos, leptomeningite purulenta e hemorragia maciça das supra-renais.

O segundo caso, criança de 5 anos, estado comatoso, petéquias da pele, referindo o pai que 15 dias antes faleceu outro filho, em 1 dia de doença semelhante à atual. O exame físico revelou: obnubilação, cianose intensa,

sufusões hemorrágicas, petéquias das mucosas, visíveis, pressão arterial, zero; frequência respiratória, 32 mov./min.; temperatura, 37,5°C; reflexos ósteo-tendinosos abolidos, ausência de sinais meníngeos. Líquido céfalo-raquidiano, opalescente. Faleceu após 2 horas, apesar da medicação. A hemocultura e cultura do LCR foi positiva para *Neisseria meningitidis*<sup>14</sup>. Hemograma com reação leucemóide e mielograma do tipo infeccioso com reação eosinófila. Faleceu após 24 horas de moléstia, apesar do tratamento. A necrópsia mostrou: petéquias da pele, mucosas e serosas, congestão dos órgãos internos, leptomeningite aguda, infiltrado eosinófilo dos espaços de Kiernan e dos gânglios linfáticos e hemorragia maciça das supra-renais.

O terceiro caso, criança de 9 anos, cianótica, com petéquias da pele e mucosas visíveis. Pressão arterial, 60/0 mmHg; pulso filiforme. Temperatura, 36,9°C. Diminuição dos reflexos ósteo-tendinosos, ausência de sinais meníngeos; vômitos, fezes moles e convulsões, LCR incolor, cultura negativa. Hemograma do tipo infeccioso, e presença de diplococo Gram-negativo no sangue periférico. Uréia: 26 mg/100 ml sangue; glicose, 96 mg/100 ml de sangue. Subida da temperatura (39,3°C) e morte após 34 horas de moléstia. A necrópsia mostrou petéquias e sufusões hemorrágicas de pele, mucosas e serosas. Congestão dos pulmões e focos broncopenumônicos; as cápsulas supra-renais com extensas sufusões hemorrágicas; gânglios linfáticos aumentados.

O estudo bacteriológico desses três casos foi completado por CUNHA<sup>14</sup>, que isolou *Neisseria meningitidis* no caso 1; nos casos 2 e 3 isolou bactérias do gênero *Neisseria*, que não puderam ser classificadas pelas provas laboratoriais, provavelmente amostras aberrantes de *Neisseria meningitidis*.

Em 1951, NELSON, & GOLDSTEIN<sup>15</sup> apresentam caso com evolução favorável com o tratamento pela cortisona, de criança com 11 anos de idade, apresentando quadro clínico que podia incluí-lo no síndrome citado, e cultura positiva para *Neisseria meningitidis* obtida do líquor céfalo-raquidiano.

## II — REGISTRO DO CASO

### Observação anatomoclínica

J. I. O., 8 anos, branca, sexo feminino, natural de Londrina (Paraná, Brasil), residen-

te na Capital (São Paulo, Brasil). Internada no Hospital de Isolamento "Emílio Ribas", sob Reg. n.º 124 585, com o diagnóstico de escarlatina.

*Anamnese* — Doente há 24 horas, com febre; diarreia e vômitos repetidos, corpo avermelhado.

*Antecedentes* — Sarampo e parotidite. Foi vacinada contra a varíola e febre amarela. Uma irmã faleceu recentemente com escarlatina.

*Exame físico geral e especial* — Temperatura 38,6°C. Estado geral, mau; prostração e apatia; desidratação. Exantema escarlatinoso. Vermelhidão intensa da oro-faringe e palato; *Aparelho respiratório*: nada digno de nota. *Aparelho circulatório*: taquicardia (140 mov./min.). *Aparelho digestivo*, nada digno de nota. *Sistema nervoso*: Brudzinsky, duvidoso. *Líquor*: límpido, incolor, proteínas 14 mg/100 ml, cloretos, 720 mg/100 ml, glicose 30 mg/100 ml. *Reação de Pandy*, negativa.

*Evolução* — Estado grave; faleceu em colapso periférico no dia seguinte ao da internação.

*Necrópsia* — Os principais achados da necrópsia foram: criança do sexo feminino, branca, apresentando a pele de tonalidade avermelhada e exantema vermelho-escarlate, mais visível no tronco e membros. Congestão da leptomeninge e edema do encéfalo. Angina escarlatínosa. Intensa hiperemia e edema da mucosa da faringe, laringe e da úvula. Áreas de enfisema e de colapso dos pulmões. Petéquias do epicárdio. Congestão e esteatose do fígado. Hiperplasia da polpa vermelha do baço.

A luz intestinal apresentava vários *Ascaris lumbricoides*. As lesões mais importantes foram localizadas em ambas as cápsulas supra-renais, que se apresentavam de volume aumentado, forma conservada, aspecto externo difusamente hemorrágico. A superfície de corte mostrava em ambas as glândulas destruição total das camadas cortical e medular, e de aspecto francamente hemorrágico (Fig. 1, 2 e 3).

Os exames microscópicos mais importantes nos outros órgãos demonstraram: hemor-

ragia das supra-renais (Fig. 4, 5 e 6) intensa congestão capilar e venosa, com extravasamento de hemátias, no derma (Fig. 7), tecido sub-cutâneo (Fig. 8), pulmões (Fig. 9), leptomeninge (Fig. 10), vasos do miocárdio (Fig. 11), camadas cortical e medular dos rins, fígado, baço e encéfalo e meninges, não se notando na leptomeninge focos inflamató-

rios. Chama a atenção grande número de eosinófilos junto aos focos de hemorragia, principalmente no fígado, nos espaços de Kürnann (Fig. 12) e junto à veia centro-lobular. Coloração para bacilo — método de Goodpasture — mostra presença de estreptococos em vários tecidos, inclusive no tecido frouxo peri-adrenal (Fig. 13).

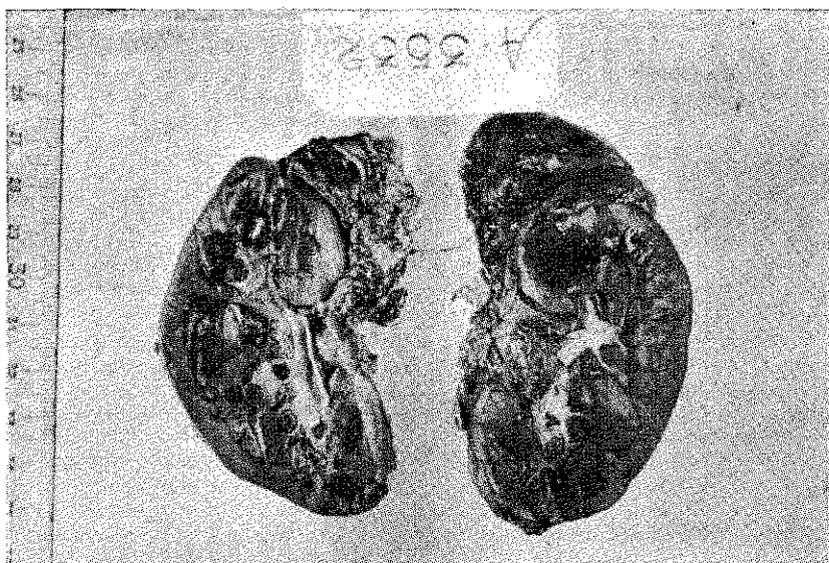


Fig. 1 — Síndrome de Waterhouse-Friderichsen na escarlatina. Rins esquerdo e direito (metades), notando-se hemorragia das supra-renais e intensa congestão da medular e cortical.

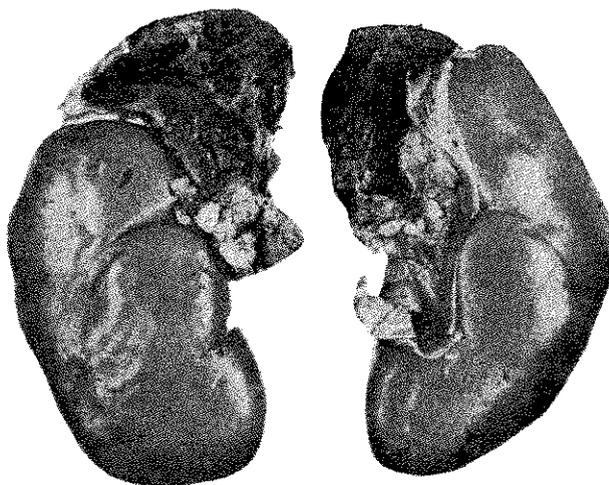


Fig. 2 — Superfície externa dos rins esquerdo e direito.

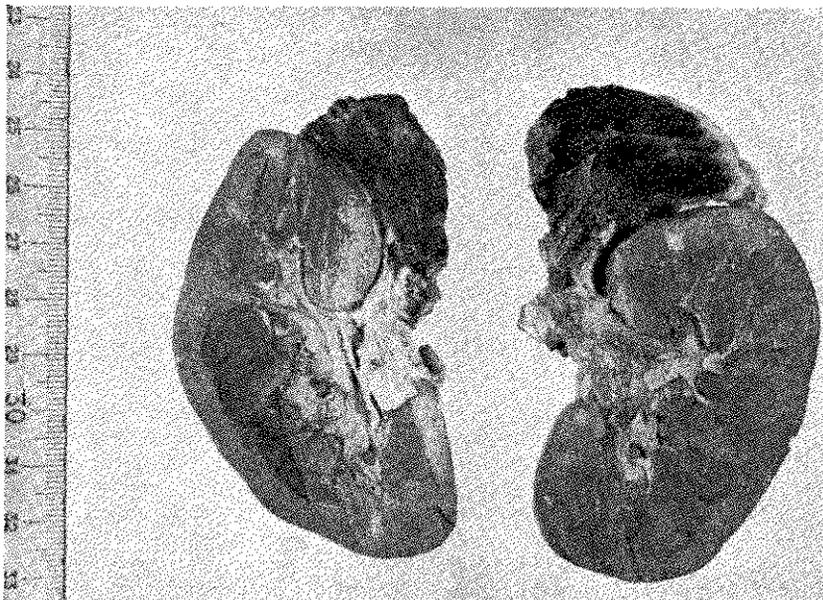


Fig. 3 — Superfície de corte dos rins esquerdo e direito, após fixação. Hemorragia das supra-renais.

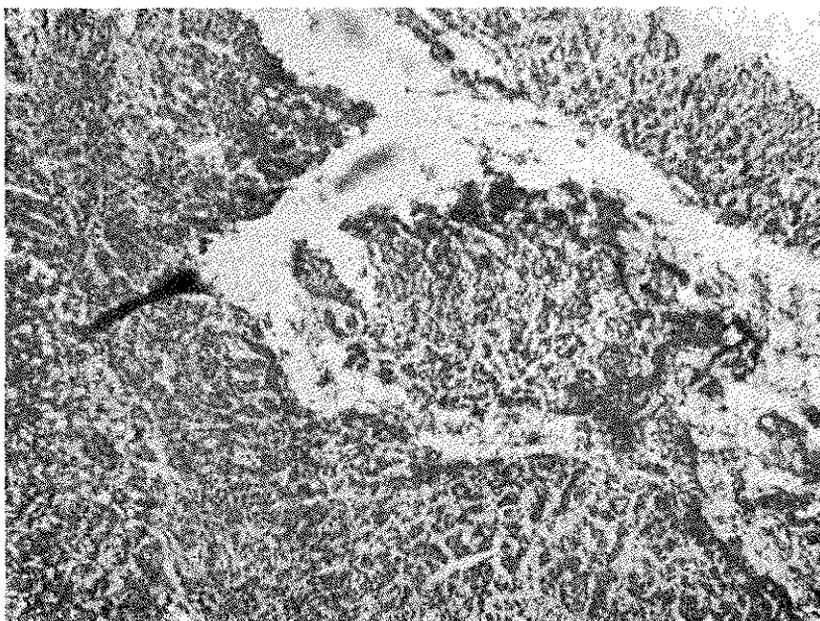


Fig. 4 — Corte da glândula supra-renal. Desorganização da medular e cortical. H. E. 160 X.

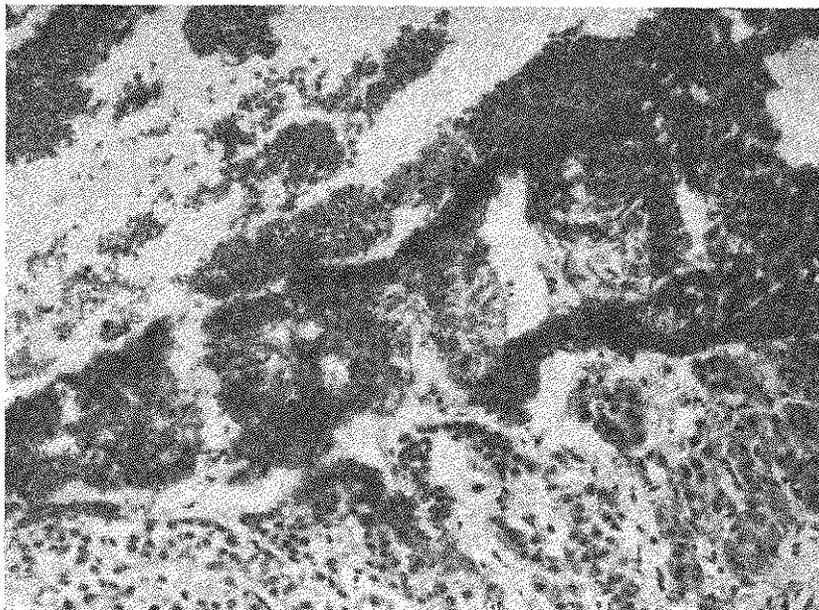


Fig. 5 — Hemorragia da supra-renal, com destruição irregular da medular e cortical. H.E. 160 X.

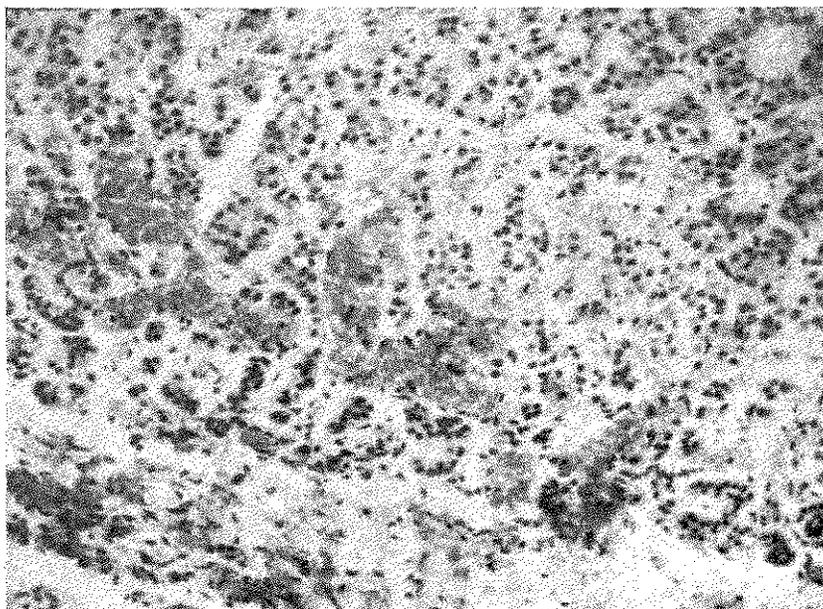


Fig. 6 — Preservação de grandes áreas da glândula. H. E. 160 X.

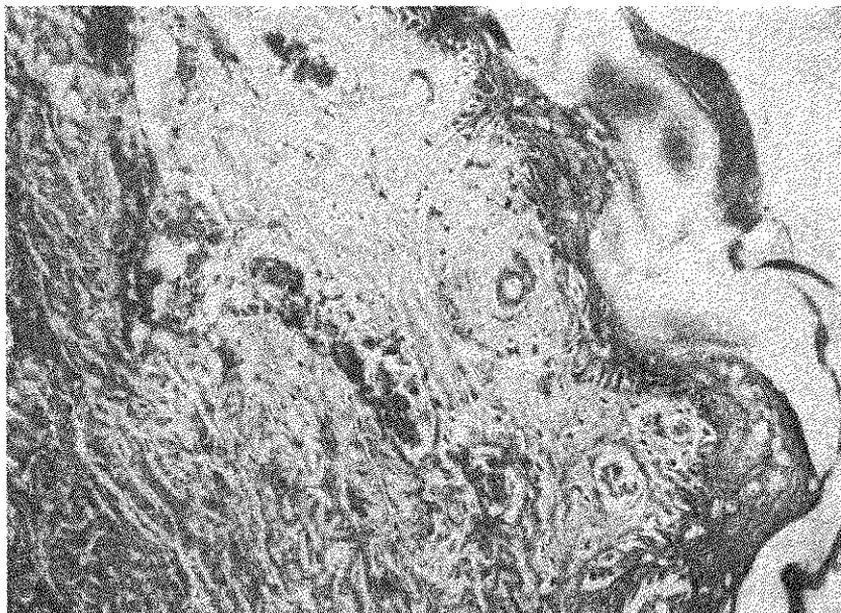


Fig. 7 — Intensa dilatação dos capilares do derma. H. E. 160 X.

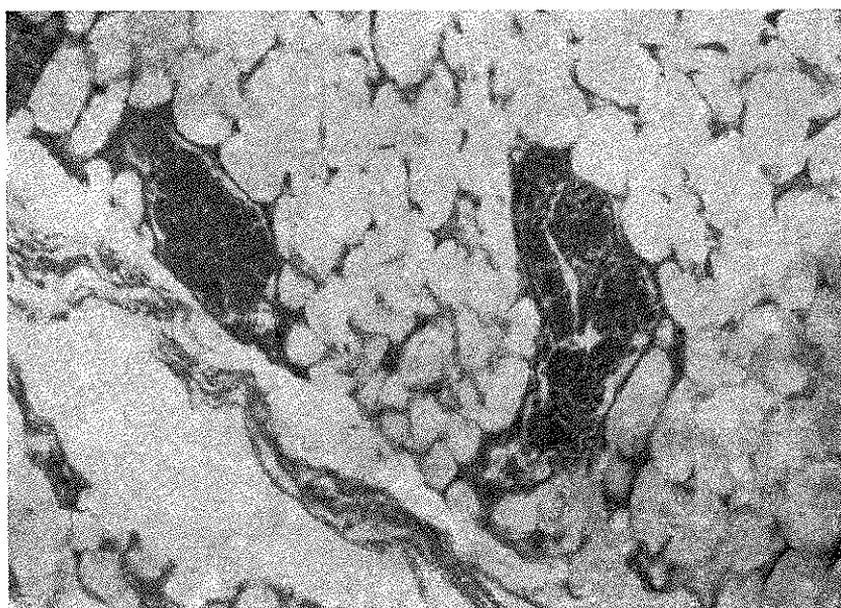


Fig. 8 — Intensa dilatação dos capilares do tecido celular subcutâneo. H. E. 400 X.

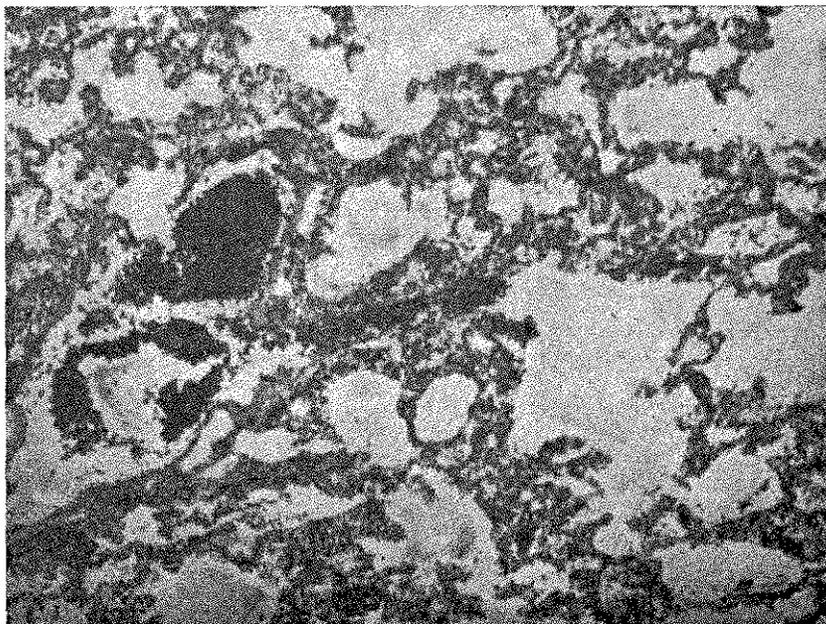


Fig. 9 — Intensa congestão do pulmão. H. E. 25 X.

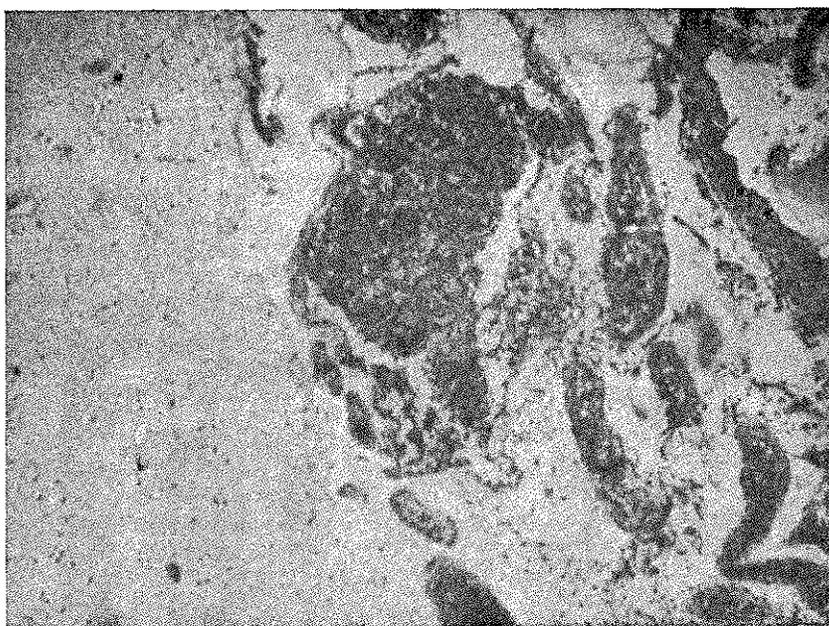


Fig. 10 — Intensa congestão dos vasos da leptomeninge. Ausência de exsudato inflamatório. H. E. 160 X.

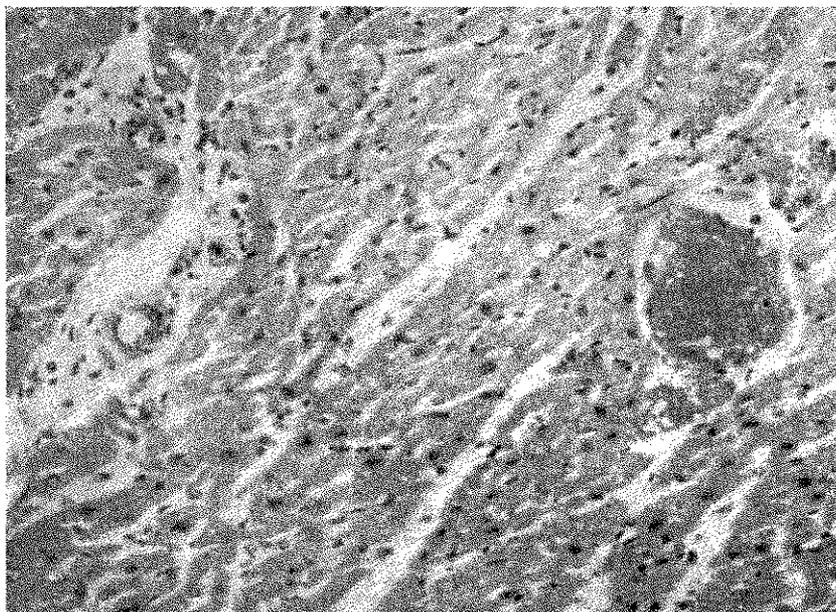


Fig. 11 — Intensa congestão dos capilares do miocárdio. H. E. 100 X.

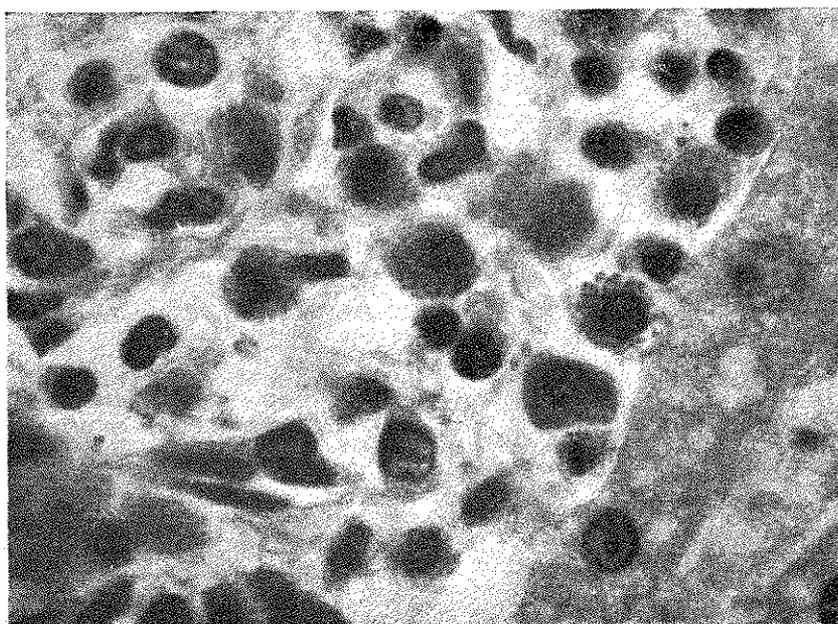


Fig. 12 — Presença de grande número de eosinófilos junto ao espaço de Künnen, no fígado. H. E. 1 000 X.

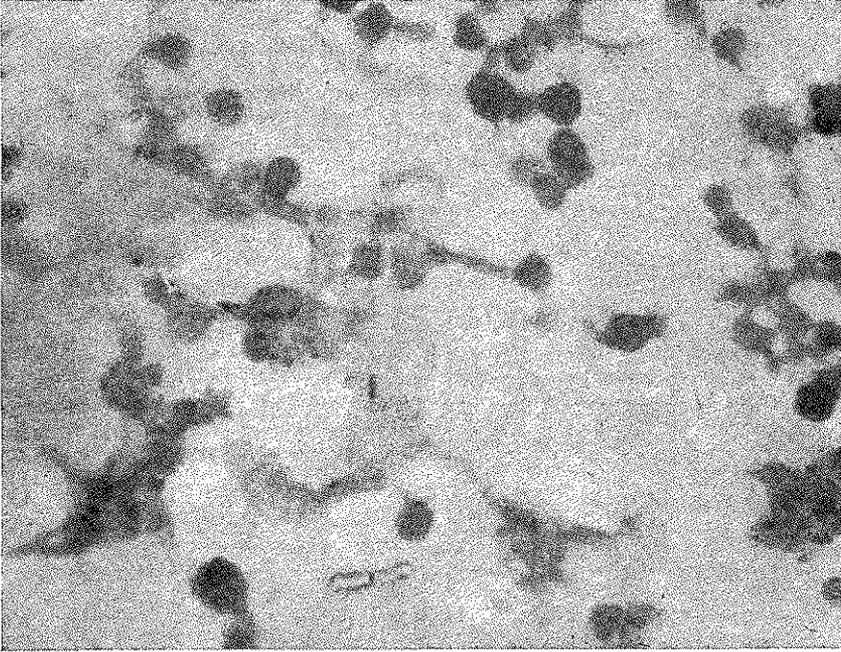


Fig. 13 — Presença de estreptococo no tecido peri-adrenal. Goodpasture. 1 000 X.

### III — DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A hemorragia maciça das supra-renais, no presente caso, condicionando a morte do indivíduo, em colapso, é acompanhada por uma intensa dilatação de toda a rede capilar em todos os órgãos, denotando paralisia dos capilares; focos isolados de hemorragia, conseqüentes à lesão da parede vascular pela ação da toxina eritrogênica, estão evidentes em todos os tecidos. No caso particular das glândulas supra-renais, êsses focos são maiores, porém, não são tão intensos como dão a impressão ao se examinarem macroscopicamente as glândulas referidas. A eosinofilia tissular, presente, corresponderia tanto a uma reação dos tecidos à toxina referida, do tipo alérgico, como ainda à presença de uma acentuada ascaridiose. Teria sido essa ascaridiose fator coadjuvante para sensibilizar as supra-renais à ação mais intensa da toxina eritrogênica do *Streptococcus scarlatinae*? No transcorrer de uma necrópsia na qual não sabemos o que iremos encontrar, torna-se impossível confirmar essa hipótese; somente um trabalho em laboratório de patologia experimental poderia confirmá-la. Chama, ain-

da, a atenção, a existência de outro caso fatal de escarlatina na família. Na execução das necrópsias, neste síndrome, o que temos observado com mais freqüência (2 casos, trabalho não publicado) é o meningococo; a hemorragia das supra-renais se processa sem o aparecimento das alterações meningíticas. Algumas moléstias exantemáticas causadas por vírus, como a varicela, em sua forma hemorrágica, poderiam ocasionar êsse síndrome.

No caso presente, a hemorragia das cápsulas supra-renais se processou na evolução da escarlatina. Na pesquisa bibliográfica feita por nós e nos tratados de patologia, não há referências dêste síndrome, na escarlatina.

Parece-nos pois que, na literatura mundial, esta é a primeira constatação de encontro da hemorragia maciça das glândulas supra-renais na escarlatina, com documentação anatomo-patológica. Infelizmente por dificuldades técnicas do momento, não foi possível isolar o agente patogênico, constatando-se, porém, a presença de estreptococos em vários tecidos; tratando-se de um síndrome bem característico, ocasionado, porém, por diversas bac-

térias, deve-se preferir a denominação de Síndrome de Waterhouse-Friderichsen, em lugar de meningococemia fulminante.

a) *Principais sinais que constituem o síndrome de Waterhouse-Friderichsen* — Das observações publicadas por diversos autores, aqui analisadas e do caso presente, pudemos reunir as principais características clínicas que constituem este síndrome:

Ocorre, principalmente, em criança com idade próxima de um ano e é raro no adulto. Instala-se abruptamente em indivíduo com saúde perfeita. É raro, como complicação de outra enfermidade, como no caso aqui descrito. Aparece agitação, cefaléia, vômitos, dores abdominais, perda de apetite, febre moderada no início, e alta no final. Extremidades cianosadas e pele pálida. Instala-se também rapidamente um quadro petequial, com petéquias no tronco, face e extremidades, podendo transformar-se em púrpura e equimoses. Os sinais meníngeos são raros, mas podem estar presentes; o liquor céfalo-raquidiano, na maioria dos casos, acusa hiperleucocitose. O quadro clínico se agrava rapidamente, aparecendo respiração tipo Cheyne-Stokes, pulso imperceptível, batimentos cardíacos pouco audíveis, melhorando com injeções de adrenalina. Queda de pressão e choque. Mais raramente se nota hipotermia bucal e anal. Antes das 48 horas do início dos sintomas, o paciente entra em coma e falece.

Os sintomas clínicos graves, em sua grande maioria, estão na dependência da falência das glândulas supra-renais.

Quanto ao agente bacteriano, pode ser identificado no liquor céfalo raquidiano ou no material obtido, ou nas petéquias ou máculas cutâneas, ou no sangue circulante, diretamente pelo exame bacterioscópico ou pela cultura. A bactéria mais comumente encontrada é a *Neisseria meningitidis*; outras bactérias podem ser encontradas como o estreptococo, estafilococo, colibacilo, bacilo de Friedländer, bacilo piocianico. Durante a necropsia, pode-se identificar a bactéria em cultura do sangue obtido por punção do ventrículo direito e pode-se ainda verificar sua presença em cortes de tecido pelo método de Goodpasture. Portanto, no Síndrome de Waterhouse-Friderichsen, nem sempre está presente o meningococo, nem sempre é uma

meningococemia fulminante, pois outras bactérias podem ser as causadoras do síndrome.

Importante é o diagnóstico rápido para instituição imediata de terapêutica adequada, ou seja, combater o estado de choque (com desoxicorticoesterona e outras medicações antichoque) e combater o agente bacteriano com antibiótico adequado.

b) *Quadro anatomopatológico* — Os achados mais importante nas necropsias são: hemorragia maciça bi-lateral das cápsulas supra-renais, na maioria dos casos, com maior comprometimento da camada medular; aumento do volume da glândula em ambos os lados, aspecto hemorrágico purpúreo; hemorragia em focos da camada medular, e em pequenos focos, da cortical, desorganização do arranjo cordonal próprio, e intensa congestão dos capilares. Pequenas hemorragias das serosas (peritônio, epicárdio e pleuras). Aumento do volume do timus e gânglios linfáticos. Intensa congestão dos vasos das meninges e, em grande número de casos, acentua o processo inflamatório das leptomeninges.

## RESUMO

Pela primeira vez é documentado na literatura mundial caso de hemorragia maciça das cápsulas supra-renais, no transcórre da escarlatina. Os sinais clínicos e achados anatomopatológicos permitem incluir o referido caso na Síndrome de Waterhouse-Friderichsen.

Estudo microscópico dos diferentes tecidos e órgãos demonstra a ação de toxina eritrôgênica, evidenciando-se intensa dilatação e paralisia de toda a rede capilar, com focos de hemorragia.

O exame macroscópico das supra-renais revela-nos aspecto francamente hemorrágico; o exame microscópico mostra-nos grande extensão do parênquima, conservado, o que não impediu o estado de choque e morte do paciente.

No presente trabalho não foi encontrada inflamação da meninge, o que também pode acontecer no síndrome de Waterhouse-Friderichsen.

Outras bactérias, além do meningococo, têm sido identificadas por diversos autores como responsáveis pelo síndrome, tais como: es-

treptococo, estafilococo, colibacilo, bacilo pio-cianico, bacilo de Friedländer; portanto, na meningococemia fulminante ou no síndrome de Waterhouse-Friderichsen, é importante o isolamento do agente, no líquido, sangue, ou nas petéquias ou máculas cutâneas.

*Agradecimentos* — Ao Sr. Justino da Silva pela colaboração na parte fotográfica.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AEGERTER, E. E. — The Waterhouse-Friderichsen syndrome. A review of the literature and a report of two cases. J. Amer. Med. Ass. 106(20):1715-9, 1936.
2. WATERHOUSE, R. — A case of suprarenal apoplexy. Lancet 1(4566):577-8, 1911.
3. KUNSTADTER, R. H. — The Waterhouse-Friderichsen syndrome. Archs. Pediat. 56:489-507, 1939.
4. SEEBER, F. — Symptomatische Purpura fulminans bei Meningokokkensepsis. Munchen. Med. Wschr. 77(38):1617-9, 1930.
5. FOUCAR, F. H. — Acute fulminating meningococcus infection with bilateral capillary hemorrhage of the adrenals as the most striking gross pathologic lesion; a case report. Ann. Intern. Med. 9(12):1736-46, 1936.
6. GLANZMANN, E. — Beitrag zur Klinik, Hämatologie und Pathologie des Syndroms von Waterhouse-Friderichsen. (Nebennierenapoplexie bei kleinen Kindern). Jb. Kinderheilkunde 139(1-2):49-63, 1933.
7. FONSECA, J. L. — Um caso de purpura fulminante. Pediatria Prat. 6(5-7):78-83, 1935.
8. WEINGART, J. S. — Fulminating meningococcus septicemia with bilateral adrenal hemorrhage. J. Iowa St. Med. Soc. 28(1):5-6, 1938.
9. FOX, M. J. & ENZER, N. — A consideration of the phenomenon of purpura following scarlet fever. Amer. J. Med. Sci. 196(3):321-9, 1938.
10. HUGHES, J. F. — Fulminating septicaemia associated with purpura and adrenal haemorrhage (Waterhouse-Friderichsen syndrome). Br. Med. J. 2:353-4, 1940.
11. HERBERT, P. A. & MANGES, W. E. — Fulminating meningococcal infection (The Waterhouse-Friderichsen syndrome). Arch. Path. 36:413, 1943.
12. BARBOSA, J. M. — Síndrome de Waterhouse-Friderichsen. Med. Cir. Farm. n.º 135: 361-71, 1947.
13. NEVES, D. P.; TRANCHESI, J.; PINHEIRO, D.; GONÇALVES, J. — Síndrome de Waterhouse-Friderichsen. Revta. Hosp. Clin. Fac. Med. Univ. S. Paulo 3(3): 327-38, 1948.
14. CUNHA, A. C. — Síndrome de Waterhouse-Friderichsen. Estudo bacteriológico do agente isolado. Revta. Hosp. Clin. Fac. Med. Univ. S. Paulo 3(3):339-44, 1948.
15. NELSON, J. C. & GOLDSTEIN, N. — Nature of Waterhouse-Friderichsen syndrome; report of case with successful treatment with cortisone. J. Amer. Med. Assoc. 148:1193-7, 1951.

Recebido para publicação em 23 de janeiro de 1968.



## INVESTIGAÇÃO SOBRE A OCORRÊNCIA DE LEPTOSPIROSES EM TRABALHADORES DE DIVERSAS PROFISSÕES NO DISTRITO SEDE DO MUNICÍPIO DE SOROCABA (1)

AN INVESTIGATION ON THE OCCURRING OF LEPTOSPIROSIS AMONG WORKERS OF SEVERAL OCCUPATIONS IN THE MUNICIPAL DISTRICT OF SOROCABA

MÁRIO CANDIDO OLIVEIRA GOMES (2)  
SABURO HYAKUTAKE (3)  
MARCELO OSWALDO ÁLVARES CORRÊA (3)

### SUMMARY

Serological tests for leptospirosis were conducted among 342 workers of several occupations in the Municipal District of Sorocaba. It was found that four of the subjects presented serum-agglutinin for *L. icterohaemorrhagiae* with titres of 1:3,200; 1:200; 1:200 e 1:1600. This last case showed co-agglutination for *L. sentot* to 1:400. Two of the subjects were workers of the sewerage system and two of the water supply system. Clinical and epidemiological data on the four patients were provided in a table.

### INTRODUÇÃO

Dêsde sua caracterização como entidade clínica distinta, por Landouzy em 1883, de acordo com ALSTON & BROOM<sup>1</sup> (1958), a primeira das leptospiroses humanas descritas, posteriormente conhecido como moléstia de Weil (1886), foi associada com o trabalho em esgotos afetando, principalmente, os operários que desempenhavam essa tarefa.

Inada e col. em 1916 demonstraram ser o *Spirochaeta icterohaemorrhagiae* o agente etiológico da doença de Weil, posteriormente transferido por Noguchi para o gênero *Leptospira*.

Dêsde então, numerosas publicações deixaram bem nítida a íntima relação entre a natureza da atividade laborativa dos pacientes e a infecção leptospirótica; MAGALDI<sup>2</sup> (1962), resume em sua tese os principais eventos na literatura médica a êsse respeito. Entre nós, Veronesi, Amato e Corrêa (não publicado), em 1954 efetuaram um inquérito entre 52 trabalhadores da rede de esgotos de São Paulo, alguns há mais de 10 anos nessa pro-

fissão, encontrando apenas dois trabalhadores com aglutininas para *L. icterohaemorrhagiae*, os quais não referiram episódio icterico em seu passado.

CORRÊA *et alii*<sup>3</sup> (1954), efetuaram inquérito sorológico para diagnóstico de leptospiroses entre 208 lavradores de arrozais do vale do rio Paraíba, encontrando positividade em apenas três pacientes, sendo dois para *L. canicola* (1:200 e 1:400) e um para *L. zanonii* (1:200).

Em 1962, Magaldi realizou inquérito sorológico entre 200 trabalhadores da rede de esgotos de São Paulo, encontrando 57 casos positivos ou seja, 28,5% de positividade, sendo 31 casos positivos para *L. icterohaemorrhagiae* e o restante distribuído entre as seguintes leptospiroses: *L. saxkoebing*, *L. hyos*, *L. australis*, *L. pomona*, *L. mini*, *L. bataviae* e *L. poi*, ficando evidenciado o caráter profissional das leptospiroses e a alta incidência das formas inaparentes ou anictéricas da doença.

(1) Trabalho realizado na Seção de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz e na Clínica de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina de Sorocaba da Pontifícia Universidade Católica de S. Paulo.

(2) Da Clínica de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina de Sorocaba.

(3) Do Instituto Adolfo Lutz.

EDELWEIS<sup>4</sup> (1962), efetuou inquérito sorológico no Rio Grande do Sul em 101 lavradores de arrozais das margens do rio Jacuí, encontrando dois casos positivos, um para *L. icterohaemorrhagiae*, outro para *L. canicola*. Entre 79 magarefes, o mesmo autor encontrou dois soros com aglutininas para *L. icterohaemorrhagiae* e um para *L. canicola*. Em 86 trabalhadores de esgoto, encontrou um com aglutininas para *L. icterohaemorrhagiae* a 1:200 e outro para *L. canicola* 1:100. Entre 60 mineiros de São Jerônimo, apenas um com aglutinação positiva para *L. icterohaemorrhagiae* a 1:200.

Em Belo Horizonte, Nohmi (1964) realizou inquérito sorológico em 203 trabalhadores da rede de Água e Esgotos, encontrando três casos com soroaglutininas para leptospirosas, a saber: um para *L. canicola* (1:200), um para *L. icterohaemorrhagiae* (1:200) e um para *L. grippotyphosa*. Entre 74 magarefes encontrou dois casos, um positivo para *L. canicola* (1:200), o outro para *L. icterohaemorrhagiae* (1:400). Finalmente, entre 48 trabalhadores de arrozais, restaurantes e feiras-livres, encontrou apenas um caso com aglutininas para *L. canicola* e *L. icterohaemorrhagiae*. Nos diferentes grupos ocupacionais encontrou pois, respectivamente, as incidências de 1,4%, 2,7% e 2,08%.

CASTRO *et alii*<sup>5</sup> examinaram amostras de sangue de 372 magarefes e funcionários estaduais encarregados de matadouros, encontrando positividade para leptospirosas em 11 pacientes, sendo 5 para *L. icterohaemorrhagiae* (1:100), um para *L. pomona* (1:100), um para *L. hyos* (1:200) e um para *L. canicola* (1:800) e *L. icterohaemorrhagiae* (1:200).

CORRÊA *et alii* (1966) efetuaram inquérito sorológico para leptospiroses em 403 coletores de lixo de São Paulo, encontrando 12 operários com sorôaglutinações positivas para leptospirosas, sendo 10 para *L. icterohaemorrhagiae* (títulos de 1:50 até 1:1.600), um para *L. wolffii* (1:50) e um para *L. bataviae* (1:100) e *L. sejrøe* (1:100).

SANTA ROSA *et alii*<sup>7</sup> examinando 1 217 soros de trabalhadores rurais, encontrou 66 positivos para diferentes leptospirosas, em títulos iguais ou superiores a 1:200, de acordo com a seguinte distribuição:

*L. canicola* (25), *L. icterohaemorrhagiae* (18), *L. pomona* (11), *L. grippotyphosa* (9) e *L. sejrøe* (3).

Ainda Santa Rosa e col. (comunicação pessoal), em 317 amostras de sangue de lixeiros, encontrou positividade para leptospirosas em 31 amostras: *L. poi* (8), *L. icterohaemorrhagiae* (5), *L. andamana* (5), *L. grippotyphosa* (4), *L. canicola* (2), *L. pyrogenes* (2), *L. cynopteri* (2), *L. saxkoebing* (1), *L. australis* (1) e *L. wolffii* (1).

Na presente investigação efetuamos um inquérito sorológico para verificar a ocorrência de leptospiroses entre trabalhadores de diversas profissões no distrito sede do município de Sorocaba.

#### MATERIAL E MÉTODOS

O município de Sorocaba é constituído de vários subdistritos ou seja, Sorocaba, Brigadeiro Tobias, Edem e Cajurú do Sul. O presente inquérito limita-se, apenas, ao distrito sede do Município, o qual ocupa uma área de 615 quilômetros quadrados. Na configuração geral do município, um terço da sua superfície é montanhosa e o restante, plana. A parte compreendida entre o sul e o sudoeste é acidentada e retalhada por profunda grotas. Como acidentes geográficos de relevo, encontram-se a Serra de São Francisco e o Rio Sorocaba. O distrito sede do Município de Sorocaba tem uma população de 123 053 habitantes e 25 064 prédios. O serviço de água do Município é mantido pela Prefeitura Municipal e as captações de água são feitas por meio de barragens, pedra e concreto, não havendo nenhum processo de purificação, nem de tratamento da água consumida pela população. A água considerada poluída por natureza é oriunda da represa da Light, alimentada pelas águas dos rios Sorocaba e Ibiúna. A população consome em vinte e quatro horas, aproximadamente, vinte e seis bilhões de litros. A água é trazida da represa da Light através de adutoras para reservatórios de capacidade variada nos diversos bairros. A tubulação do centro do Município, mais antiga e considerada melhor, encontra-se totalmente danificada com várias vias de drenagem para o serviço de esgoto. A análise da água procedida pelo Instituto "Adolfo Lutz" está em desacordo com o artigo 404 do Regulamento

aprovado pelo decreto-lei n.º 15 642, de 9 de fevereiro de 1946, que diz o seguinte: "Consideram-se águas de abastecimento as águas potáveis, tratadas ou não, destinadas ao consumo público. Não deverão conter germes patogênicos do grupo coliforme em 5 grupos porções de 10 ml". Dos 35 064 prédios existentes no Município, 24 428 estão ligados à rede de água. Existem diversas fontes, poços públicos e particulares. Os trabalhadores da rede de água, funcionários da Prefeitura Municipal, examinados no presente inquérito, distribuem-se nos mais diversos setores do esquema de fornecimento de água, ou seja: manobristas, encanadores, ajudantes de encanador, calceteiros e cavoqueiros.

A rede de esgoto do Município é precária e serve apenas a 16 248 prédios. O Rio Sorocaba recebe a rede final de esgotos, sendo que as águas servidas não sofrem nenhum processo de tratamento. Não existem na cidade galerias de águas pluviais e o número de fossas existentes alcança 11 000, na maioria do tipo fossa negra. A rede de esgoto do centro do Município está totalmente danificada, existindo inúmeros vasamentos que levam o material contaminado para as águas do abastecimento. A maioria da população utiliza sanitários privados cujos conteúdos são despejados na sarjeta das ruas, escoando as águas servidas entre a calçada e a rua, na dependência do declive ou da ondulação do terreno. O material putrefeito percorre as diversas vias dos bairros menos favorecidos que predominam em quantidade, sendo recolhido por tubulações deficientes, para desaguar em terrenos, lagoas e no Rio Sorocaba. Todavia, parte da população suburbana utiliza ainda dejeções diretas em terrenos ou em fossas de sua propriedade. Os funcionários da rede de esgotos são, também, empregados da Prefeitura Municipal e têm as mais diversas funções como sejam: abertura de poços, assentamento de manilhas, desobstrução de tubulações, abertura de novas redes etc. A maioria dos trabalhadores de esgoto não utiliza material de proteção tal como luvas, botas, etc., argumentando com a dificuldade que seu uso traria para o desempenho de suas funções quotidianas. O serviço de lixo do Município é executado por caminhões especializados tipo "Colecons", sendo os detritos removidos diariamente, existindo apenas 19 000 prédios beneficiados. Não há tratamento do lixo, sendo o mesmo deposita-

do a cinco quilômetros da cidade, em área da Prefeitura. Os coletores de lixo exercem as mais variadas funções, quais sejam: motoristas, recolhedores com caminhão ou carrinho etc.

A limpeza pública do Município é executada por funcionários da Prefeitura Municipal através do sistema manual de limpeza e recolhimento em carrinhos individuais. A cidade, de modo geral, apresenta condições de higiene razoáveis para as características do Município.

O Matadouro Municipal funciona orientado por veterinários da Prefeitura e abate quase diariamente gado bovino e suíno.

O Mercado Municipal situa-se no centro do distrito sede e mantém regulares condições de higiene alimentar; suas bancas são na maioria constituídas por empórios de secos e molhados, bares, depósitos de frutas, bancas de verduras e açougues, não existindo comércio de animais vivos de qualquer espécie. A Prefeitura Municipal aluga a numerosas bancas e fornece servidores para a limpeza e administração. Os cortumes existentes em Sorocaba são do tipo manual e fornecem, exclusivamente, couros mal trabalhados.

Ainda, no presente inquérito foram examinados alguns funcionários da Prefeitura Municipal que têm função de aprisionamento de cães errantes e vadios, assim como um número mínimo de trabalhadores de granja.

O material utilizado neste inquérito consistiu de amostras de sangue retiradas de funcionários da Prefeitura Municipal de Sorocaba e das Seções de Água, Esgoto, Lixo, Limpeza Pública, Matadouro e Mercado Municipal. Foram incluídos, ainda, os comerciantes do Mercado Municipal, trabalhadores em cortumes e granjas.

Ao todo foram examinados 342 indivíduos, sendo 29 funcionários do serviço de esgotos, 58 do serviço de água, 89, da limpeza pública, 21, do Matadouro, 82, do Mercado e 4 funcionários da apreensão de cães. Foram ainda examinados 55 trabalhadores pertencentes a 4 cortumes do Município, assim como 4 empregados de granjas.

A idade da amostra pesquisada variou de 15 a 67 anos. Foram estudados 275 indivíduos da raça branca e 64 não branca, restando três de coloração tegumentar não identificada.

Do material pertencente ao presente inquérito, 109 indivíduos são oriundos de Sorocaba, 197 de outras cidades do Estado de São Paulo, 16 de outros estados do Brasil, 16 de outras nacionalidades, restando 3 que não puderam ser esclarecidas.

Pertenciam ao sexo masculino 320 indivíduos e apenas 22, ao feminino.

A técnica utilizada no inquérito foi a que passamos a descrever:

Retirado o sangue do paciente por punção venosa e colocado em tubo de ensaio, após a retração do coágulo, procede-se à separação do soro com o qual se prepara uma diluição a 1:50 em solução tampão de fosfatos, da qual se distribuem 5 gotas em cada escavação das placas de porcelana utilizadas neste processo.

Como antígenos, usamos culturas de leptospiros em meio de Korthof modificado às quais se adiciona formalina na proporção de 3 gotas para cada 3 ml de cultura.

No quadro I figuram as leptospiros usadas como antígenos:

QUADRO I

Sorotipo	Amostra padrão
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	RGa
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	M 20
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	N 3294
<i>L. grippityphosa</i>	Moskva V
<i>L. canicola</i>	Hind Utrecht IV
<i>L. pomona</i>	Pomona
<i>L. australis</i>	Ballico
<i>L. bataviae</i>	Swart
<i>L. sejrøe</i>	M 84
<i>L. pyrogenes</i>	Salnam
<i>L. tarassovi</i>	Mitis Johanson
<i>L. sackoebing</i>	Mus 24
<i>L. andamana</i>	C H 11
<i>L. autumnalis</i>	Akiyami A
<i>L. djasiman</i>	Djasiman
<i>L. sentot</i>	Sentot
<i>L. wolffii</i>	3705
<i>L. javanica</i>	Veldrat Batavia 46
<i>L. hebdomadis</i>	Pasteur

Colocam-se 5 gotas de cada antígeno na respectiva escavação onde já haviam 5 gotas de soro diluído a 1:50 de tal maneira que a deluição final é de 1:100, título este eleito como de valor diagnóstico significativo. Colocam-se as placas em estufa a 28°C

durante duas horas, ao fim das quais se procede à leitura em campo escuro, retirando-se as amostras com alça de platina e colocando-as em lâminas.

A soro-aglutinação é considerada positiva quando pelo menos cinquenta por cento das leptospiros do campo microscópico se apresentam aglutinadas.

Em fase ulterior procede-se à titulação dos séros positivos para determinada leptospira, preparando-se diluições sucessivas de soro a partir de 1:100, e usando como antígeno a cultura formolisada da leptospira que aglutinou na prova de triagem. O restante da técnica é igual à que foi descrita anteriormente.

#### RESULTADOS E CONCLUSÕES

Dentre os 342 séros estudados pertencentes a trabalhadores das diversas profissões anteriormente enumeradas, encontramos apenas quatro casos positivos, todos para *L. icterohaemorrhagiae*; somente em um caso houve coaglutinação com *L. sentot*. No quadro II estão discriminados os resultados obtidos, distribuídos os pacientes de acôrdo com o tipo de atividade laborativa desenvolvida:

QUADRO II

Grupo ocupacional	Número de examinados	Soro-aglutinação positiva para leptospiros
I — Esgoto	29	2
II — Agua	58	2
III — Lixo	89	0
IV — Matadouro	21	0
V — Apreensão de animais	4	0
VI — Cortume	55	0
VII — Granjas	4	0
VIII — Mercado	82	0

Dos quatro indivíduos com soro-aglutinação positiva, dois pertenciam ao serviço de

QUADRO III

N.º	Nome	Profissão	Leptospira	Resultado
1	A.M.P.	Esgôto	<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	1:3200
1	A.R.	Esgôto	<i>L. Icterohaemorrhagiae</i>	1:200
3	A.T.M.	�gua	<i>L. Icterohaemorrhagiae</i>	1:200
4	J.P.A.	�gua	<i>L. Icterohaemorrhagiae</i> <i>L. Sentot</i>	1:1600 1:400

esg tos e dois ao serviço de  gua. Os títulos para *L. icterohaemorrhagiae* encontrados foram respectivamente: 1:3 200; 1:200; 1:200 e 1:11 600; no caso n.º 4, o título para *L. sentot* foi de 1:400, conforme demonstra o quadro III:

Acima damos uma breve notícia sôbre os dados clínicos dos pacientes mencionados.

*Paciente n.º 1* — A.P.M., 48 anos, branco, brasileiro, natural de Tietê. Trabalha no serviço de esg tos há 14 anos, desenvolvendo diversas fun es. Anteriormente foi lavrador. Durante o exercício de suas fun es trabalha com águas servidas até a altura dos joelhos, tendo observado em numerosas ocasiões ratos mortos, sendo, às vêzes, necessário retir -los para desobstruir uma tubula o. Usa botas e luvas no serviço há apenas 30 dias. Não desempenha a mesma fun o fora de seu emprêgo como funcionário municipal. Reside atualmente em Sorocaba em casa de tijolo, água encanada, fossa séptica. Tem como cria o apenas galinhas e nega a existência de ratos em seu domicílio. Nega do mesmo modo enchentes em sua residência, assim como rios ou riachos próximos; 45 dias antes da retirada de sangue para o presente inquerito, ao desentupir um poço de inspe o, na rua, sentiu cefaléia, dores generalizadas pelo corpo, principalmente nas articula es, febre alta, chegando até 39°C, durante 3 dias, acompanhada de sudorose intensa, sem coriza, sem vermelhidão, sem caroços pelo corpo e sem urina manchando a roupa. Permaneceu 25 dias em repouso absoluto porque se sentia fraco. Durante a evo-

lu o surgiu icterícia cutâneo-mucosa. Foi atendido por um profissional que não f z diagnóstico da doença, assim como também não solicitou nenhum exame laboratorial. No momento da colheita do sangue para o presente estudo, foi encontrado fígado palpável a 3 dedos do rebordo costal, não doloroso, borda fina e consistência não aumentada. Não foram encontrados sinais ao exame físico. A rea o de sôro-aglutina o para *L. icterohaemorrhagiae* atingiu o título de 1:3200 em 20-7-64. Depois de 2 anos do presente inquerito, o paciente foi novamente examinado, não se queixando de nada e o exame físico foi absolutamente normal. Em 27-6-66 foi repetida a s ro-aglutina o, resultando ainda positiva ao título de 1:200.

*Paciente n.º 2* — A.R., 35 anos, brasileiro, branco, natural de Capão Bonito. Trabalha no serviço de esgôto há 9 anos. Anteriormente trabalhou numa fábrica de cimento. Durante o desempenho de suas fun es trabalha com água no máximo até o joelho, e refere a presença de numerosos ratos. Não usa botas nem luvas para exercer seu trabalho; tal tipo de atividade   exclusiva para a Prefeitura Municipal. Reside atualmente em Sorocaba, em casa de tijolo, água encanada e o serviço de drenagem de esgôto   feito através de fossas. Tem como cria o, apenas, algumas galinhas e nega a existência de ratos no seu domicílio. Nega igualmente a ocorrência de enchentes, assim como rios ou riachos na vizinhança. Durante a colheita do material para o presente inquerito, não menciona nenhum antecedente mórbido

a não ser febrícula que durou 4 a 5 dias, há 5 anos. No momento do exame sorológico apresentou-se sem nenhuma alteração ao exame físico; todavia, atualmente, sendo novamente convocado por apresentar reação de sôro-aglutinação para *L. icterohaemorrhagiae* positiva ao título de 1:200, pudemos constatar a presença de fígado aumentado de volume, a 2 cm da reborda costal, e baço percutível, palpado na reborda a 1 cm. No entanto, nega no momento qualquer queixa clínica. A repetição do sôro-aglutinação para *L. icterohaemorrhagiae* em 27-6-66 foi positiva a 1:400, após cerca de 2 anos do presente inquérito.

*Paciente n. 3* — B.T.M., 33 anos, não branco, brasileiro, natural de Sorocaba, trabalha no serviço de água há 10 anos, como encanador. Anteriormente exerceu a função de guarda de ferramentas na mesma Prefeitura. Durante o desempenho de suas funções nega o contato com águas servidas ou ratos. Reside em Sorocaba em casa de tijolo, água encanada e com serviço coletivo para esgôto. Refere a presença de ratos no domicílio, mais ou menos frequentemente, e tem como criação galinhas e um cão. Nega do mesmo modo a ocorrência de enchentes, córregos ou riachos nas proximidades de sua residência. Nega doença nos animais domésticos. Todavia, tem o hábito de pescar e banhar-se no Rio Sorocaba. No momento do inquérito não apresentou nenhuma queixa, porém, refere que há um ano e poucos dias apresentou olhos amarelados, não procurando facultativo; a urina nesta ocasião não manchava a roupa (sic). Do mesmo modo, mencione há 5 ou 6 meses atrás um surto de gripe que durou dois dias. O paciente é alcoólatra crônico, e já foi várias vezes internado para tratamento. Apresentou, no dia da colheita do material, fígado palpável a 3 cm da reborda costal, duro, não doloroso. Agora, porém, é manobrista na caixa d'água. Do mesmo modo tem reação de Sabin Feldman para toxoplasmose positiva ao título de 1:4 000. A transaminase glutâmico-oxalacética, nesta ocasião, revelou 87 unidades Sigma-Frankel e a prova de Hanger mostrou-se positiva (+++). A gamagloblina pela eletroforese do sôro revelou 1,76 pelo método de Gornall, Bardawyll e David e de Grasmann e Hanning.

Após um ano e meio do presente inquérito, o paciente retornou para exame clínico

e sorológico, quando foi encontrado fígado com as mesmas características anteriores. Nesta ocasião a reação de sôro-aglutinação para *L. icterohaemorrhagiae* foi negativa.

*Paciente n.º 4* — J.P.A., 40 anos, branco, brasileiro, natural de Itapetininga. Trabalha no serviço de água há 7 anos, onde exerce a função de ajudante de encanador. O paciente entra excepcionalmente na água e não existem ratos onde trabalha. Em Sorocaba vive numa casa de tijolo, com água encanada, existindo, todavia, fossa séptica. Em sua residência tem um cão, gato e alguns passarinhos. Nega a existência de ratos, assim como enchentes ou riachos na vizinhança; às vezes, nos seus períodos de afastamento da Prefeitura, executa algum trabalho extra, dentro da sua especialidade. O paciente antes da profissão atual já trabalhou no serviço de esgôto. Nos seus antecedentes clínicos relata, há 2 anos da colheita do presente material, um período de 30 dias em que precisou ficar acamado em decorrência de uma moléstia febril, com dores musculares. Nega todavia, alterações da cor da urina e dos olhos. No momento do inquérito, encontramos ao exame físico fígado a 2 cm do rebordo costal, duro, não doloroso, e baço percutível, porém, não palpável, que permaneceu até hoje inalterável. A reação de sôro-aglutinação para leptospirose revelou o título de 1:1 600 para *L. icterohaemorrhagiae* e 1:400 para *L. sentot*. Atualmente, a mesma reação revelou o título de 1:100 para *L. icterohaemorrhagiae*.

O quadro IV resume os principais dados epidemiológicos e clínicos dos quatro pacientes que apresentaram sôro-aglutinações positivas para leptospiroses.

A idade dos pacientes oscilou entre 33 e 48 anos, sendo 3 de cor branca e 1 de cor não branca. Quanto à profissão, 2 trabalhavam na rede de esgôto durante 14 a 9 anos respectivamente e 2 no serviço de água, por 10 a 7 anos respectivamente. Os dois pacientes que trabalhavam no serviço de esgôto tinham contato com águas servidas e ratos mortos, desempenhando seu mister sem proteção; ademais, não referem risco extra-profissional.

Todavia, os que trabalhavam no serviço de água não relatam contato com águas servidas, ratos, inundações; um destes pacientes refere o hábito de pescar e banhar-se no rio

QUADRO IV

Identificação	Natureza e tempo de serviço	Hábitos de vida	Antecedentes	Sintomas e sinais	Exame clínico	Sêro-aglutinação para <i>L. icterohaemorrhagiae</i>	
						Em 20-7-64	Em 27-6-66
N.º 1 — A.M.P. 48 anos branco	Esgôto, há 14 anos	Contato com águas servidas e ratos mortos. Trabalha sem proteção. Riscos exclusivamente profissionais.	Nada a registrar.	Cefaléia, dores generalizadas. Febre alta, sudorese. Icterícia há 45 dias.	Fígado a 3 cm do rebordo costal.	1:3 200	1:200
N.º 2 — A.R. 35 anos branco	Esgôto, há 9 anos	Contato com águas servidas e ratos mortos. Trabalha sem proteção. Riscos exclusivamente profissionais.	Há 5 anos, febrícula durante 5 dias.	Nada a registrar.	Fígado palpável a 2 cm do rebordo costal. Baço palpável a 1 dedo.	1:200	1:400
N.º 3 — B.T.M. 33 anos não branco	Água - encanador - há 10 anos	Nega contato com águas servidas. Ratos no domicílio. Costuma pescar e banhar-se no rio Sorocaba.	Icterícia há 1 ano. Alcoolismo crônico. Cirrose hepática. Toxoplasmose.	Nada a registrar.	Fígado palpável a 3 cm do rebordo costal.	1:200	Negativo
N.º 4 — J.P.A. 40 anos branco	Água - ajudante de encanador e manobrista de caixa d'água - há 7 anos	Nega contato com água; nega ratos no domicílio. Já trabalhou em esgôto.	Há 2 anos, febre e mialgia, durante 30 dias.	Nada a registrar.	Fígado palpável a 2 cm. Baço percutível.	1:1600 <i>L. sentot</i> 1:400	1:100

GOMES, M. C. O.; HYAKUTAKE, S. & CORREA, M. O. A. — Investigação sobre a ocorrência de leptospiroses em trabalhadores de diversas profissões no distrito sede do município de Sorocaba. Rev. Inst. Adolfo Lutz 28:19-26, 1968.

Sorocaba. Apenas um dentre os quatro pacientes revelou sintomas e sinais sugestivos da doença atual, porém, todos apresentaram fígado palpável a 2 a 2 cm do rebordo costal. Um dos pacientes teve baço palpável a um cm do rebordo costal; em outro paciente houve concomitância com alcoolismo crônico, cirrose hepática e toxoplasmose infecção.

Fator importante que deve ser considerado na análise dêste material, como tentativa de explicar o número baixo de casos positivos em trabalhadores onde deveriam ser esperados resultados superiores, reside no título inicial utilizado na sôro-aglutinação para leptospirose, que foi neste inquérito de 1:200. Quiçá, se o título inicial fôsse de 1:100, o número de casos positivos para leptospirose seria bem maior do que o encontrado.

#### RESUMO

Os autores efetuaram inquérito sorológico para o diagnóstico das leptospiroses entre 342 trabalhadores de diversas profissões do distrito sede do Município de Sorocaba, encontrando quatro indivíduos com sôro-aglutininas para *L. icterohaemorrhagiae*, aos títulos de 1:3 200; 1:200; 1:200 e 1:1 600. Neste último caso houve coaglutinação com *L. sentot* a 1:400. Dois eram trabalhadores de esgôto e dois pertenciam aos serviços de água. Foram

discriminados, em quadro, os dados clínicos e epidemiológicos dos quatro pacientes estudados.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALSTON, J. M. & BROOM, J. C. — Leptospirosis in man and animals. Edinburgh, Livingstone, 1958.
2. MAGALDI, C. — Contribuição à epidemiologia das leptospiroses: investigação em trabalhadores da rede de esgotos da cidade de São Paulo. Tese. São Paulo, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1962.
3. CORRÊA, M. O. A.; AMATO NETO, V.; VERONESI, R. & BRANDÃO, C. H. — Inquérito sorológico para o diagnóstico de leptospiroses entre lavradores de arrozais do vale do rio Paraíba. Rev. Inst. Adolfo Lutz 14:33-7, 1954.
4. EDLWEISS, E. — Leptospiroses humanas: Contribuição ao seu estudo. Pôrto Alegre, Livr. Globo, 1962. Tese. Fac. Med. Univ. R. G. Sul.
5. CASTRO *et alii* — Comunicação pessoal.
6. CORRÊA, M. O. A.; HYAKUTAKE, S.; OLIVEIRA, L.; MARTINS, J. B. C. & AMATO NETO, V. — Inquérito sorológico para leptospiroses entre trabalhadores da limpeza pública da cidade de São Paulo. Rev. Med. 70(2):102, 1967.
7. SANTA ROSA *et alii* — Comunicação pessoal.

Recebido para publicação em 15 de abril de 1968.

## INIBIDORES BACTERIANOS, EM ESPECIAL A PENICILINA, NO LEITE EM PÓ DE CONSUMO DA CAPITAL <sup>(1)</sup>

### BACTERIAL INHIBITORS, WITH SPECIAL REFERENCE TO PENICILLIN, PRESENT IN POWDERED MILK OF S. PAULO, BRAZIL

ALEXANDRE MELLO FILHO <sup>(2)</sup>

LAURO ALBANO SANDOVAL <sup>(3)</sup>

NELSON REIS RODRIGUES <sup>(4)</sup>

JOSÉ XIMENES <sup>(5)</sup>

DANIEL BASTOS DE MATOS <sup>(6)</sup>

#### SUMMARY

We have demonstrated for the first time in Brazil, in 1966, that there exist penicillin contamination of milk "in natura" used for consumption in São Paulo approximately one million liters a day.

So, it became necessary to develop a similar research related to its direct derivative, powdered milk.

Using methods based in growth inhibition of test organism such as agar-plate assay of *Bacillus subtilis* ATCC, 6633, or C.T.T. redutase test (triphenyltetrazolium chloride), and the research on the acidity degree of milk inoculated with *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*, we found in the powdered milk used in São Paulo penicillin levels between 0.05 to 0.5 U/g and also non-identified bacterial inhibitors, even possibly other antibiotics. In 1959, Food and Drug Administration, U.S.A., declared undesirable the presence of penicillin in milk since it may cause chronic or recurrent dermatosis. The presence of bacterial inhibitors may, further lead to errors in standard tests carried out in milk such as redutase test, bacterial counts, acidity test, etc.

The inhibitors may influence the normal flora metabolic capacity decreasing acid production and therefore affecting adversely the industrialization of milk.

In view of these facts, we believe that urgent measures should be taken, such as:

1. An official promotion to carry out a nation wide research which will give a real and complete idea of the problem.
2. A campaign aiming to avoid milking of cows under antibiotic or sulfamidic treatment.
3. Proper use of antibiotics as feed supplement to dairy cattle.
4. Rigorous sanitary control with every milk control laboratory assaying systematically the production coming from the country, topographically, section by section, in order to locate the source of contaminated milk and its sanitation in the shortest possible time.

Finally, it is important to consider frauded the milk carrying repeatedly inhibitory substances specially antibiotics direct or indirectly added.

- 
- (1) Realizado na Divisão Técnica dos Laboratórios da Cooperativa Central de Laticínios do Estado de São Paulo. Apresentado, em caráter de nota preliminar, no Departamento de Higiene e Medicina Tropical da Associação Paulista de Medicina, em 4-12-1967.
  - (2) Da Clínica Dermato-sifilográfica do Hospital Municipal. Da Divisão Técnica dos Laboratórios da Cooperativa Central de Laticínios do Estado de São Paulo. Do Departamento de Dermatologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo (Serviço Prof. H. Cerrutti).
  - (3) Da Seção de Industrialização do Leite do Departamento de Produção Animal, da Secretaria de Agricultura de São Paulo.
  - (4) Da Divisão de Controle de Qualidade da Laborerápica-Bristol S.A.
  - (5) Da Divisão de Microbiologia do Departamento Médico da Laborerápica-Bristol S.A.
  - (6) Da Divisão Técnica de Laboratórios da Cooperativa Central de Laticínios do Estado de S. Paulo.

## INTRODUÇÃO

Há 38 anos passados, em 1929, com a descoberta da penicilina por FLEMING<sup>1</sup>, inaugurava-se a era dos antibióticos.

Com o advento da antibioticoterapia, os antibióticos passaram a ser empregados há quase duas décadas, por fazendeiros e veterinários no tratamento das doenças infecciosas do gado, sendo também comum a incorporação daquelas drogas nas dietas suplementares, na alimentação do rebanho bovino<sup>2,3,4,5</sup>.

Os antibióticos no leite surgem em decorrência de três principais possibilidades: indiretamente, em consequência do tratamento veterinário do gado leiteiro e pelo fornecimento aos rebanhos de dietas suplementares ou diretamente por fraude.

Rapidamente analisemos os três mecanismos. De toda a vasta patologia animal, bovina, há que ressaltar a trilogia mórbida: mastite, brucelose e tuberculose.

E indubitavelmente é a mastite o verdadeiro flagelo do gado bovino pois, não sendo doença do tipo epidêmico clássico, com manifestações de caráter agudo ou sub-agudo, é, ao contrário, insidiosa, persistente e altamente difundível, afetando os rebanhos leiteiros em extensão mundial. Dada a sua estreita subordinação anatômica, regional, poucos são na verdade os danos biológicos sistêmicos, passando mesmo inadvertida; porém imensas são as consequências econômicas da zoonose<sup>6</sup>.

Triste e oneroso privilégio, o rebanho mais bem selecionado, o melhor gado leiteiro é o mais afetado, com fenômenos inflamatórios, muitas vezes acentuados, em consequência dos quais surgem a fibrose e a atrofia maior ou menor da glândula mamária e queda vertical de sua produtividade.

"E sem gado que possa dar leite, e sem leite para vender" — escreveu o produtor no mármore de sua contabilidade glacial, o epítáfio da sua própria atividade<sup>7</sup>.

Este é o aspecto econômico do problema. Porém, mais grave ainda é o aspecto sanitário. Sabemos que as vacas atacadas de mastite "ao mesmo tempo que segregam o leite expulsam grandes quantidades de pus, que contaminam aquele produto e o transformam em poderoso agente de contágio"<sup>8</sup>, causando epidemias, como a de angina, assinaladas em Chicago, com mais de 10 000 casos,

sem citar a casuística norte-americana de escarlatina atribuída ao leite, e de origem animal ou mesmo por contágio humano do produto.

Além dessas estreptocócias geradas pela ingestão do leite, avultam as manifestações secundárias ao consumo de produto inquinado por estafilococos de origem mastítica, com uma grande variedade de quadros clínicos desde as infecções da pele, gastrenterites, septicemias, e morte<sup>9</sup>.

Além de sua ação bacteriana direta, o estafilococo produz uma enterotoxina termo-estável, que resiste à fervura, mesmo num período de 30 minutos<sup>9</sup>.

As enterotoxinas estafilocócicas no leite ou em seus sub-produtos causam nos consumidores manifestações que consistem em náuseas, vômitos, surtos diarréicos, dores abdominais difusas, ocorrendo de uma a seis horas após a ingestão do alimento<sup>9</sup>.

O uso não só do leite "in natura" mas também do leite em pó pode originar tais complicações na verdade raras pois é necessário que para tal fato suceda que o produto líquido fique muitas horas em deficiente temperatura de frigorificação.

Não obstante, as duas maiores casuísticas associadas à ingestão do leite em pó são a inglesa abrangendo 1 200 pessoas<sup>10</sup> em 1955, e a de Porto Rico, atingindo 775 escolares que adoeceram após se alimentarem com leite produzido nos Estados Unidos e que ficou estocado em carro tanque, sem refrigeração, 48 horas antes de ser transformado em pó, em 1957<sup>11</sup>.

E ressalta ROGICK<sup>12</sup> o fato de que as doenças transmissíveis ao homem através do leite e derivados aparecem com mais freqüência nas localidades onde não há usina de pasteurização e em consequência do consumo do produto cru, contaminado.

Porém, se a contaminação maciça do leite de um rebanho pode ser facilmente evitada, já nas fazendas, pela exclusão da ordenha dos animais clinicamente doentes, há que considerar o problema complexo da mastite sub-clínica, também inaparente fonte de infecção do leite e muitas vezes ante-véspera da doença manifesta<sup>13,14,15</sup>.

Nos Estados Unidos, em 1956, segundo estimativas de NELSON<sup>16</sup> e de EDMOND & ME-

RILAN<sup>17</sup>, cêrca de 25% das vacas são clínica ou sub-clinicamente doentes, originando 15% de substituições no rebanho e 15 ou 20% na diminuição da produção leiteira.

Segundo COURTER e GALTON<sup>18</sup>, observações feitas em 1962 referem que 70% dos rebanhos leiteiros são portadores de mastite estafilocócica, não fornecendo entretanto os autores a estatística do número de animais infectados.

No Estado de São Paulo, conforme comprovam o trabalho de REIS & SWENSON<sup>19</sup>, 1931, SILVA FILHO<sup>20</sup>, 1942, LACERDA JUNIOR, ZANI NETO e FREITAS<sup>21, 22</sup>, 1953/1954, REZENDE<sup>23</sup>, 1962, existe mastite bovina afetando os rebanhos leiteiros, produtores dos leites tipo "A", "B" e "C", e principalmente dos dois primeiros, não tendo, entretanto, ainda sido possível avaliar os danos provocados pela doença.

Segundo ROGICK<sup>12</sup>, PORTO & GONÇALVES<sup>15</sup>, foi constatada a mastite na forma sub-clínica em 46% de 15 rebanhos produtores de leite tipo "C" e em 92% dos 38 rebanhos produtores do leite tipo "B", examinados em 1964. E que por estimativa de ROGICK<sup>15</sup> em 1963, na zona de Campinas "levando-se em aprêço uma produção anual de 10 milhões de litros, a mutilação econômica dos criadores deve andar na ordem de 60 milhões de cruzeiros, não entrando neste cômputo, o leite rejeitado na plataforma da Usina, por apresentar contagem leucocitária elevada". E isso, acontecendo em 1963.

Na Grã-Bretanha, segundo LAING & MALCOLM<sup>24</sup> 1954, e BLACKBURN<sup>25</sup> 1956, os prejuízos são da ordem de 32 bilhões de cruzeiros velhos anuais. Nos Estados Unidos, as perdas são quatro vêzes superiores<sup>15</sup>.

Na Espanha, por estimativa apresentada por CECILIA<sup>6</sup>, 1956, a então produção mundial anual de leite andava pelo valor de "mais de dois mil e quinhentos milhões de hectolitros"; só na França, já em 1940, a perda anual na produção lactea era da ordem de 10 milhões de hectolitros de leite<sup>26</sup>. Não é pois de estranhar que, para preservar essa formidável riqueza, lancem mãos, fazendeiros e veterinários, dos diversos antibióticos administrados aos animais afetados através da perfusão de pastas aquosas ou oleosas difundidas no quarto ou quartos do úbere infectado.

Devido à procura intensa e à livre aquisição das preparações antibióticas, na luta con-

tra a mastite, começaram as mesmas a ser perfundidas indiscriminada e abusivamente, sem maiores cuidados sanitários<sup>27</sup>, como o de retirar da ordenha do leite destinado ao consumo humano e à industrialização os animais em tratamento. E já podemos falar então em contaminação antibiótica do leite, dependendo a sua extensão, freqüência e valores, naturalmente da quantidade do leite que os animais tratados estejam produzindo, em relação ao total ordenhado no rebanho.

Modificou-se também a patologia mamária pela menor freqüência do estreptococo mais susceptível e pelo desenvolvimento de espécies de estafilococos resistentes aos antibióticos<sup>27</sup>, que são também eliminados no leite juntamente com o medicamento empregado e tornando menos útil.

Entretanto, outras doenças infecciosas acometem o gado bovino, havendo a necessidade do emprêço de diversos tipos de antibióticos administrados entre outras vias, principalmente pela parenteral, oral, intra-uterina, com eliminação relativamente rápida daquelas substâncias.

Porém, quando se utiliza a penicilina "retard" especialmente a benzatínica, na dosagem terapêutica de cêrca de 10 000 U por quilo pêso vivo<sup>28</sup>, a sua eliminação extremamente lenta resulta na presença contínua e prolongada do medicamento no leite ordenhado, na verdade em potências muito inferiores aquelas encontradas após o tratamento local anti-mastítico<sup>4, 5, 29, 30</sup>.

A suplementação, com antibiótico, das rações alimentares dos animais favorecendo o seu crescimento e acelerando a sua maturação, é fato comprovado pela observação feita em todo o mundo, embora não se conheça bem o seu mecanismo de ação.

Entretanto, infelizmente a antibiótico-suplementação deveria ser destinada somente aos animais jovens, o que freqüentemente não acontece.

As doses, nos anos de 1950-1955, acrescentadas às rações alimentares, oscilavam de 5 a 15 mg/quilo. Após, a tendência foi a de aumentar, atingindo ou passando 100 a 200 mg/quilo, visando mais a prevenção de infecções que a estimulação do crescimento, e empregados sem a supervisão veterinária.

Nas dosagens da ordem de 20 mg/quilo de pêso, conforme recomendação da Organi-

zação Mundial de Saúde, não se encontra antibiótico em quantidade significativa ou mesmo determinável nos tecidos, mas ao contrário acontece quando se ministra 100 a 200 mg/quilo de peso<sup>31</sup>. Porém acreditamos que a sua influência no aparecimento de vetígios de antibiótico no leite seja realmente pequena. Entretanto, essa suplementação antibiótica tem o inconveniente de induzir a antibiótico-resistência da micro-flora intestinal do animal, desde que não seja empregada devidamente (20 mg/quilo de peso).

A flora bacteriana intestinal comporta muitas vezes salmonelas (*Salmonella typhimurium*) que se tornam rapidamente resistentes. O tratamento pois indiscriminado da mastite bovina e a suplementação alimentar antibiótico dos animais em doses excessivas e em períodos prolongados levam respectivamente ao aparecimento no leite de espécies estafilocócicas e enterobacteriáceas resistentes, “não se sabendo entretanto de que maneira êstes germes passam a constituir problemas em terapêutica humana”<sup>31</sup>.

Finalmente a terceira eventualidade por nós aventada foi a da fraude, colocação proposital do antibiótico no leite, com intenção conservadora do produto.

Conforme refere Paschoal Mucciolo, “a introdução dos antibióticos na conservação dos alimentos deve ser atribuída a TARR, que em 1944, na Estação Experimental de Pesca, do Pacífico, tentou o uso de ácido penicilínico para prolongar a comestibilidade de filés de peixe”<sup>32, 33, 34</sup>.

De dados obtidos em 1958, em diversos países, inclusive o Brasil, a clortetraciclina estava sendo utilizada, com permissão oficial, para a conservação de carne, pescado e aves.

Entretanto os antibióticos assim empregados além da possibilidade, embora pequena, de desenvolver uma micro-flora resistente<sup>35</sup>, podem acarretar distúrbios no balanço da flora intestinal humana, se usados a longo termo<sup>32</sup>, ou induzir a antibiótico-resistência.

E, segundo MUCCILO<sup>32</sup> são essas as razões que “levaram alguns estudiosos como Hansen (1961), a preconizar o uso reservado e exclusivo de um tipo de antibiótico para aplicação na conservação dos alimentos”. Segundo cita LACAZ<sup>36</sup> os antibióticos vêm sendo usado também para o combate das contaminações verificadas nas fermentações principalmente as alcoólicas; nos Estados Unidos,

segundo AQUARONE<sup>27</sup> (1959), para prevenir a contaminação durante a fabricação da cerveja.

No leite, em face das primeiras observações do aparecimento de antibiótico, secundários a tratamento veterinário, diversos pesquisadores entre êles CURRAN<sup>38</sup> (1946) e FOLEY & BYRNE<sup>39</sup> (1950) tentaram experimentalmente o emprêgo das penicilinas como conservantes e demonstraram a sua ineficiência pela pequena ação sôbre muitas espécies de *Bacillus* e sôbre os coliformes.

Entretanto, a estreptomocina já evidenciava boa ação conservadora e a clortetraciclina e a oxitetraciclina, no dose de 10 p.p.m., foram capazes de impedir o crescimento bacteriano por 20 horas a 37°C<sup>32</sup>.

Mas ficou bem acentuado por Mucciolo que a adição de antibióticos, nas fontes de produção, impediria que o leite fosse utilizado devidamente na industrialização, no preparo de queijos e produtos dietéticos fermentados como o iogurte e a coalhada, cujo preparo dependeria da boa multiplicação de germes fermentadores da lactose, previamente selecionados e inoculados no leite, e cujo crescimento seria parcial ou totalmente inibido pelos antibióticos.

O uso sistemático de antibióticos traria pois o inconveniente “de obrigar a uma seleção do leite na fonte de produção o que seria de todo inviável”<sup>32</sup>, sendo também prática ilegal, contrária ao que determina o atual Regulamento Federal a respeito<sup>78,79</sup>.

Entretanto além do uso abusivo e indiscriminado das preparações antibióticas, conforme acentua o “The Journal of the American Medical Association”, no seu editorial “Penicillin and other antibiotics in milk”<sup>40</sup>, existe alguma suspeita de que os antibióticos estejam sendo adicionados ao leite, como recurso de conservação contra a deterioração do produto, verificada por excessiva multiplicação da flora microbiana, no verão ou nos dias em que a temperatura se mantém elevada”. Entretanto também os sulfamídicos têm sido revelados no leite, ao par de resíduos de substâncias químicas originadas na higienização química dos vasilhames e maquinária utilizados na indústria de laticínios<sup>41, 42</sup>.

Há mais de 20 anos vem a literatura mundial se enriquecendo com inúmeros trabalhos de pesquisa da presença de substâncias inibi-

doras do crescimento bacteriano no leite, principalmente os antibióticos e, destes, destacadamente a penicilina, pela maior facilidade na sua pesquisa com a utilização da enzima penicilino-inativamente, específica — a penicilinasase<sup>43, 44, 45, 46, 47</sup>.

Em que pese o vulto de publicações existentes na literatura mundial, até 1966, quando apresentamos no Departamento de Higiene e Medicina Tropical da Associação Paulista de Medicina a nota prévia das nossas pesquisas sobre a presença de inibidores bacterianos no leite "in natura" tipo C, de consumo da Capital, e em 1967, os resultados preliminares das nossas investigações efetuadas com o leite em pó, no Brasil, ainda não se cuidara de avaliar direta ou indiretamente (pesquisa de substâncias inibidoras), a percentagem e grau de contaminação antibiótica do leite dado ao consumo humano<sup>5, 48, 49</sup>.

#### MÉTODOS

Tendo em vista serem os métodos empregados nestas pesquisas os utilizados em 1966-1967, em idênticas experimentações nas pesquisas efetuadas com o leite "in natura"<sup>5</sup>, deixaremos de lado os detalhes técnicos, passando apenas a fornecer, para melhor compreensão do assunto, uma rápida visão dos mesmos.

Dos inúmeros métodos propostos na literatura, nestes últimos 20 anos, *atestado ineludível de que o método ideal ainda está por surgir*, e baseados, todos, nas modificações do crescimento bacteriano, selecionamos dois, recomendados pelo "Standard Methods"<sup>50</sup>, fundamentado o primeiro no emprêgo do complexo disco absorvente, placa-agar-germe de provas e o segundo na redução do C.T.T., por nós utilizados, com algumas modificações. Complementados por um terceiro processo, tendo como fundamento a produção do ácido láctico por germes fermentadores da lactose e por nós especialmente adaptado às circunstâncias na necessidade da obtenção de um conjunto de rápida, prática e eficiente atuação.

Para a pesquisa de inibidores no leite "in natura" é fundamental o aquecimento prévio do mesmo a 80°C durante 5 minutos para destruir bacteriófagos ou substâncias inibidoras naturais eventualmente presentes, levando em conta a termo-resistência dos resíduos sulfamídicos, antibióticos e dos derivados quí-

micos da higienização do equipamento empregado na linha de beneficiamento do leite.

É obrigatória também a remoção em todo material de laboratório, em especial a vidraria, de vestígios de detergentes, mistura sulfocrômica etc., enfim o ingrediente higienizador empregado na rotina.

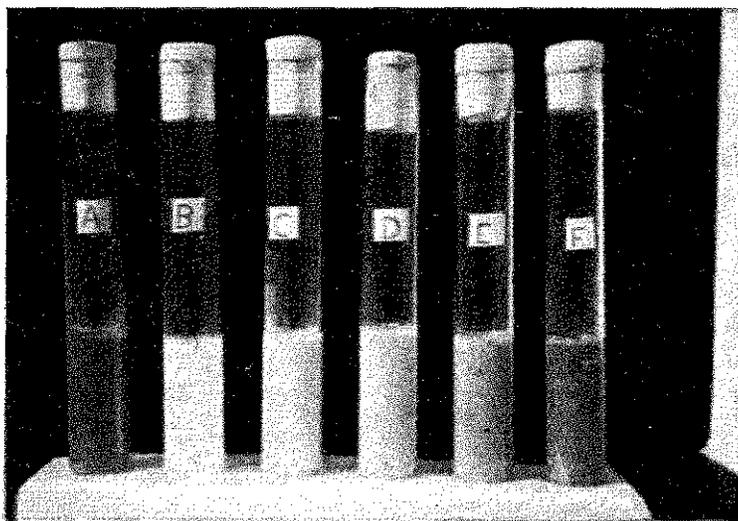
Na pesquisa feita com o leite em pó reidratado, seguimos também as mesmas normas. O primeiro método, citado de início, tem como fundamento o fato de que quando depositamos um disco de papel de filtro, embebido em leite, na superfície de uma placa contendo 5 ml de "seed-agar" acrescentando a esporos de *Bacillus subtilis* A.T.C.C., 6 633, ao incubar a placa a 37°C, o bacilo em rápido crescimento (2h30m a 3h30m) opacificava o agar exceto ao redor do disco embebido, em caso da presença do inibidor no leite, havendo então a formação de um halo de inibição que mantém a transparência local, inicial, do agar<sup>5, 50, 51, 52</sup>.

Para sabermos se é ou não a penicilina o inibidor presente, acrescentamos ao leite a enzima penicilino-inativante — a penicilinasase — e repetimos a operação acima, tornando a incubar. Uma zona de inibição em torno dos discos não tratados e ausência de inibição em torno dos discos com penicilinasase representará um teste positivo para a penicilina.

Zona de inibição com e sem penicilinasase, atividades antibacterianas diversas. No caso da penicilina, estabelecida qualitativamente a sua identidade para a determinação semi-quantitativa da sua potência, devemos comparar a dimensão do halo formado, medido pelo seu diâmetro, com as dimensões de outros halos de inibição resultantes da colocação na placa de discos embebidos em diferentes potências de penicilina: 1,0; 0,50; 0,10 e 0,05 u/ml.

O limite de sensibilidade desta prova rápida é de 0,05 unidades de penicilina por mililitro de leite. O teste da redução do C.T.T. (cloreto de 2-3-5-trifenil-tetrazolio) é baseado no fato de que aquela substância, sendo um dos poucos compostos orgânicos incolores na forma oxidada, ao se reduzir torna-se colorida, o que acontece na presença de germes em desenvolvimento.

Dez mililitros das amostras dos leites-problemas e do padrão são aquecidos a 80°C durante 5 minutos para teoricamente nivelar suas floras e destruir possíveis inibidores naturais, sendo após semeados com quantidades



Tonalidades cromáticas na prova do C.T.T.: A) Coloração vermelha — leite controle com ausência completa de inibidor; B) Cór branca — inibição completa; C e D) Côres róseo-clara e rósea — inibição média; E e F) Côres carmim e vermelha — ausência completa de inibição.

iguais de *inoculum* contendo *Streptococcus termophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* e cultivados a 45°C, durante o período de 2 horas. Retirados da estufa cultora, são acrescentados a 0,3 ml da solução aquosa do C.T.T., a 1:25, homogeneizados, e tornados a incubar por mais 30 minutos.

Ao fim de 2h30m, comparamos as colorações obtidas com a da amostra do leite padrão. A cór vermelha indicará a ausência total de inibidores e representará pleno desenvolvimento da flora bacteriana de prova e boa redução do C.T.T., conforme mostra a figura acima.

As colorações de nuances mais claras vão indicando respectivamente inibições de grau mais acentuado. A cór branca, a coloração própria do leite, indica inibição completa do desenvolvimento bacteriano com ausência de redução do C.T.T., que permanece na sua leucoforma.

Para a realização da terceira prova, a da pesquisa do teor de acidez em ácido láctico, desenvolvemos as mesmas etapas já vistas, excluindo entretanto o emprêgo do C.T.T.

Após 2h30m de incubação a 45°C, avalia-se a acidez produzida, usando solução N/9 de hidróxido de sódio e bureta pelo processo corrente recomendado por DORNIC<sup>54</sup>. Quan-

to mais elevada a acidez maior índice de atividade bacteriana e menor índice de inibição. Este método de simples execução é prova e contra-prova do anteriormente visto.

Outrossim, no final de 2h30m, as amostras isentas de inibidores encontram-se coaguladas, dando pela simples visualização imediatamente indicações do teor ácido produzido.

As amostras contendo inibidores permanecem líquidas ou no máximo tornam-se semi-coaguladas. Como prova subsidiária a empregar-se quando numa amostra de leite não conseguimos identificar a penicilina, correndo pois a ação inibidora por conta de substâncias inibidoras diversas, antibióticas ou não, pesquisamos sistematicamente a possível presença de resíduos sulfamídicos<sup>5</sup>, pelo processo de Bratt e Marshall; vestígios de compostos de amônio quaternário<sup>3</sup>, pelo método de Miller e Elliker, e os diversos conservadores entre os quais o peróxido de hidrogênio, o aldeído fórmico, pelos processos de rotina baseados nas recomendações do livro Métodos de Análise Bromatológicas<sup>55</sup>, do Instituto Adolfo Lutz.

O leite em pó deve ser reconstituído, no momento do exame, aquecido a 80°C, durante o período de 5 minutos, na proporção de 11 g por 99 ml de água destilada, esterilizada.

Para as três provas utilizadas, conforme pudemos verificar, as potências mínimas inibitórias na pesquisa da penicilina, tetraciclina, cloranfenicol e estreptomina são: 0,05 UI/ml para a penicilina, 0,5 µg/ml para a tetraciclina e o cloranfenicol e 5 UI/ml para a estreptomina.

Entre as principais provas subsidiárias levadas a efeito, a procura de sulfamídicos livres no leite foi realizada até o limite de 0,005%; a dos compostos do amônio quaternário, até a diluição de 5 p.p.m., e a do formaldeído, até 1 parte por 100 000.

### RESULTADOS

Para a realização do exame do leite em pó, foram adquiridos no comércio amostras diversas preferentemente as de produção recente e de lotes diversos tendo-se, inclusive, o cuidado prévio de verificar, na parte inferior da lata ou no pacote do leite em pó, o código indicativo da data de sua produção, para não incidirmos no erro de adquirir duas vezes o mesmo material.

Examinamos um total de 400 amostras, compreendendo um número aproximado para cada marca industrial: Glória, Mococa, Ninho, Paulista, Sol, União e Vigor.

As amostras examinadas foram sempre que possível a do leite em pó na forma integral e quando impossível, por não ser industrializado sob essa apresentação, na forma integral instantâneo.

A grande dificuldade encontrada foi a saturação do mercado com remessas de cada produção por marca industrial dentro das suas possibilidades, e que não se renovavam obviamente até o seu parcial esgotamento, quando surgiam novas partidas de leite com datas de produção diferentes das de partidas anteriormente adquiridas.

Portanto, essa foi a diferença marcante com o trabalho de pesquisa idêntico levado a efeito em 1966, com o leite líquido, cujo estoque no comércio se renova diariamente — 1 milhão de litros por dia — em alta rotação de consumo, fornecendo constantemente grande variedade de amostragem.

Dentre as 400 amostras examinadas, 4 mostraram veicular penicilinas bio-sintéticas nas potências de 0,05; 0,1; 0,4 e 0,5 U/g e 14 indicaram conter inibidores não identificados, nem mesmo pelos métodos subsi-

diários já citados, o que portanto levanta à suspeita de serem os mesmos de origem também antibiótica. Se considerarmos apenas a relação direta dos valores encontrados com referência ao total das amostras examinadas, teremos um índice de freqüência de penicilina de 1% e o de outros inibidores, de 3,5%.

Entretanto, se as substâncias inibidoras não identificadas incidiram uniformemente nas diversas marcas industriais, o que mantém o seu índice de freqüência a 3,5%, a penicilina mostrou-se presente tão somente naquelas cujo montante de produção é bem menos significativo, o que altera o raciocínio, passando pois a sua freqüência a ser considerada não só em relação ao total das amostras examinadas mas também à produção industrial dos leites em pó de marcas diversas.

Considerando que a produção no ano de 1967 foi para o leite integral a de cerca de 25 000 000 de quilos para as marcas industriais de maior produtividade e a de 500 000 a 3 000 00 de quilos para as de menores índices de produção, chegamos à conclusão de que nas amostras examinadas o índice da presença de penicilina é o de 0,12%.

E vemos comparativamente que, no leite em pó, as percentagens dos inibidores não identificados, 3,5% e da penicilina, 0,12% são bem menores do que as encontradas em 1966 para o exame do leite "in natura", respectivamente 9% e 1,9%.

Também constatamos, em relação ao leite "in natura" tipo C, que existe larga flutuação daqueles valores, pois os exames estatísticos que continuamos a fazer mostram principalmente para a penicilina índices sensivelmente mais baixos, com cerca de 0,5% de freqüência. Como ficou subentendido deixamos de entrar em maiores detalhes não declinando mesmo o nome das marcas industriais que mostraram a presença de penicilina para não dar margem a outras interpretações que não a pura intenção científica deste trabalho.

Julgamos que o número relativamente pequeno de amostras examinadas, dada a complexidade da sua obtenção, não foi de molde a favorecer um resultado que reflita absolutamente a real situação de contaminação química ou bioquímica do leite em pó.

Pois o leite em pó produzido não é tão somente o integral, mas também o desnatado,

o dietético infantil e o chamado leite em pó industrial empregado, entre outras, pelas indústrias de sorvetes, balas ou de chocolate e bolachas, alimentos que poderão, pois, embora numa possibilidade um tanto remota, veicular potências mínimas de penicilina, com sérias conseqüências de ordem da Saúde Pública.

Julgamos que também pesquisas idênticas às nossas, porém de maior amplitude, devam ser levadas a efeito pelos órgãos oficiais e com os diversos tipos do leite em pó industrializado no Brasil ou com os importados.

#### DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Tendo sido por nós demonstrado que existe contaminação penicilínica do leite "in natura" do consumo da Capital, cêrca de 1 milhão de litros diários, e do seu derivado mais direto, o leite em pó, com a presença de outros inibidores não identificados, possivelmente também antibióticos, a nosso ver urgentes medidas devem ter tomadas.

A promoção governamental de uma pesquisa de âmbito nacional que exprima a situação real, global do problema.

O desenvolvimento de uma campanha de esclarecimento visando afastar da ordenha o gado sob tratamento antibiótico ou sulfamídico.

O emprêgo adequado da antibiótico-suplementação das rações alimentares bovina.

O rigoroso policiamento sanitário a respeito, determinando-se, em todo laboratório de controle higiênico do leite, sistemático exame do produto advindo do interior, topográficamente, região por região, visando localizar os focos de produção do leite inquinado e o seu saneamento dentro do prazo o mais rápido possível<sup>5</sup>.

O estabelecimento do critério que considere fraudado o leite veiculando reiteradamente substâncias inibidoras do crescimento microbiano, principalmente se antibióticos, quer acrescentados direta ou indiretamente.

É o que vem sendo feito há muitos anos em diversos países, inclusive no nosso vizinho continental, os Estados Unidos.

Nos Estados Unidos, conforme já tivemos a oportunidade de citar<sup>5</sup>, investigações levadas a efeito pela F.D.A., de 1954 a 1956, e com o leite "in natura", evidenciaram a

presença da penicilina em níveis variáveis de 0,003 a 0,55 U/ml, e em 3,2 a 11,6% das amostras examinadas.

Na Grã-Bretanha, em 1951 e 1953 as potências penicilínicas encontradas foram de 0,35 a 15 U/ml e incidiram em 1,4 e 2,8% das amostras examinadas<sup>56, 57</sup>.

Entretanto, outros inibidores foram identificados no leite, afora os antibióticos, constituídos por substâncias químicas derivadas, na higienização do equipamento empregado na indústria de laticínios ou pelo adicionamento por manobras ilícitas, como o emprêgo do peróxido de hidrogênio e do formaldeído<sup>58</sup>. Nos Estados Unidos, em 1954, pesquisa da presença de inibidores em geral, acusou no leite *in natura*, o índice de frequência da ordem de 4,3% e no Canadá, em 1952, a percentagem de 7,3%.

Oportuno será acentuar que êsses inibidores, se de origem química, como os bioquímicos, interferem na multiplicação dos "starter" lácticos em geral, com repercussões evidentes na industrialização dos derivados fermentados do leite, tais como o queijo, a coalhada o Quefir e o Iogurte.

Segundo salientam TERPLAN & ZAADHOF<sup>59</sup>, em 1957 em ampla revisão sôbre o assunto, a ação bactericida ou bacteriostática observada no leite deriva, além dos vestígios de sulfamídicos, antibióticos ou outras medicações empregadas com finalidades terapêuticas veterinárias, de catabolitos diversos, sendo algumas próprias do organismo animal ou provindas de pesticidas empregados pela moderna agricultura na preservação das pastagens e das colheitas de grãos eliminados pelo leite.

Outra origem seria o adicionamento, ao leite, de conservadores.

A ação bacteriostática natural do leite cru, fresco, seria devido aos bacteriófagos, às substâncias chamadas lacteninas, corpos de origem proteinóide cuja quantidade varia de animal a animal, ou certas aglutinases e imunoglobulinas, complementos e anti-corpos, sendo porém substâncias termo-lábeis<sup>59, 60</sup>.

Atividades semelhantes estariam relacionadas com os hormônios, fermentos e leucócitos encontrados no leite<sup>59, 60</sup>.

Substâncias antibiótico-semelhantes podem também ser produzidas por várias sementes, tendo os ácidos graxos livres ação inibidora<sup>59</sup>.

Quais desses fatores seriam na verdade os responsáveis pela inibição encontrada pelos autores quando não vinculada a substâncias conhecidas?

Entretanto, a existência de uma ação bactericida e bacteriostática natural do leite, de importância significativa, é contestada por muitos autores como MEEDER & WALSER *apud* <sup>59</sup>, 1964.

Julgam TERPLAN & ZAADHOF <sup>59</sup> que a ação inibidora encontrada no leite está vinculada principalmente ao emprego veterinário dos antibióticos, quer por via oral ou parenteral, porém principalmente pelo emprego abusivo de antibióticos em veículos oleosos, transfundidos intracisternalmente no tratamento anti-mastítico.

A ação dos pesticidas, principalmente dos inseticidas residuais, seria realmente pequena <sup>59</sup> e mais intensa no leite líquido do que no em pó <sup>61</sup>.

Conforme acentuamos de início, além da repercussão indesejável nos setores de industrialização, na esfera da inspeção da Alimentação Pública, a presença de inibidores do crescimento e multiplicação bacteriana pode falsear o julgamento da qualidade do produto, pois as provas da redução, pesquisa de acidez, alizarol, e a contagem bacteriana global etc. fornecem na Capital, nos laboratórios fiscalizadores de controle, apenas o estado atual da flora.

Um leite altamente contaminado, veiculando substâncias inibidoras, fornecerá um resultado satisfatório ao exame de rotina. Paradoxalmente um leite produzido sob condições padrão de higiene, mas sem conter inibidores, submetido ao mesmo exame poderá ser considerado como de pior qualidade.

Levando em consideração esses fatos, nos Estados Unidos, a "Food and Drug Administration", já em 1955, considerando os resultados dos inquéritos a respeito de emprego de drogas antibióticas e conservadores de alimentos, advindos da adição direta ou indireta a alimentos destinados ao consumo humano, podendo causar fenômenos de sensibilização aos consumidores e incitar o aparecimento de variedades de microrganismos patogênicos resistentes àquelas drogas, resolve declarar que os mesmos constituem um risco à saúde pública.

A presença de antibióticos nos alimentos destinados ao consumo humano, de direto

ou indireto adicionamento, deve ser então condenados como uma adulteração.

Para avaliar, em particular, o risco, à Saúde Pública, da ingestão de antibióticos veiculados pelo leite e derivados, a "Food and Drug Administration" em 1959 reuniu em conferência, um painel de autoridades médicas no campo especializado na alergia causada pelos antibióticos.

Chegou-se a conclusão geral de que "os antibióticos diversos tais como a bacitracina, neomicina, polimixina B, tetraciclina, todos utilizados em preparados anti-mastíticos, não constituem um risco à saúde".

Entretanto, concluiu-se também que "a penicilina quando presente no leite, mesmo em pequenas parcelas, é altamente antigênica e capaz de causar reações alérgicas em pessoas sensibilizadas".

Conforme bem acentuam MENDES <sup>62</sup>, BASTOS <sup>63</sup>, ROTBERG <sup>64</sup>, SILVA *et alii* <sup>65</sup>, HSU & EVANS <sup>66</sup>, WELCH *et alii* <sup>67</sup>, LACAZ <sup>68</sup>, e a literatura mundial a respeito é tão pródiga que maiores citações seriam fastidiosas, a penicilina tem salvo dezenas de milhares de vidas humanas, mas a redução da mortalidade tem afetado a vida de milhares de pessoas sensibilizadas pela ocorrência de reações colaterais que vão da reação cutânea moderada <sup>62,64</sup>, a uma resposta extremamente polimorfa: edema ângio-neurótico, reações gerais, tipo doença do soro, manifestações oftalmológicas, rinológicas, neuro-psiíquicas, asmátiformes, gastrintestinais, cardiovasculares, e choque anafilático e morte.

A sensibilização à penicilina pode resultar da ingestão medicamentosa, de injeções ou de aplicações de pomadas para uso local, na pele, mucosa, ferimentos, ou pelo uso de colírios <sup>69</sup>.

Durante anos seguidos a penicilina tem sido injetada e administrada pela via oral aplicada a todas as partes do corpo, pulverizada, atomizada, pelas vias intra-abdominal, intracisternal, intrapleural, e intravaginal, sem deixar livre qualquer superfície ou cavidade <sup>62, 65, 70</sup>.

Casos diversos relatados, de enfermeiros e farmacêuticos sensibilizados pelo simples manuseio na preparação diária de injeções ministradas a pacientes, são bastante conhecidos.

Em 1956, nos Estados Unidos, WELCH *et alii* <sup>67</sup>, em pesquisa de âmbito nacional,

considerou que de 1 070 casos com reações graves, relacionadas, 901 foram causadas pela penicilina e que desses 901 casos, 83 faleceram.

A grande maioria das reações graves foram do tipo anafilático e a sua incidência vem aumentando conforme relacionado nos três anos de pesquisa daqueles autores: 179 casos em 1954, 231, em 1955 e 301 em 1956.

Até 1945, existia apenas um tipo de penicilina, já em 1957 se dispunha de 121 apresentações comerciais<sup>65</sup>. Se bem que nos anos que se seguiram, até esta data, foram surgindo os demais antibióticos em uso, de ação mais ampla e menos antigênica, com a criação das penicilinas semi-sintéticas, que visam competir com os vários antibióticos e já também com largo espectro, sendo penicilinase resistente, está havendo um ressurgimento da penicilina quer na forma para uso oral como parenteral<sup>70, 71, 72, 73</sup>.

E as penicilinas bio-sintéticas e as semi-sintéticas são igualmente antigênicas e capazes de produzir sensibilizações cruzadas<sup>74</sup>.

Magno é o problema se considerarmos, por comparação, o que acontece nos Estados Unidos aonde foi estimado que 10% da população — 20 milhões de norte-americanos — apresentaram em qualquer fase de sua vida predisposição a sensibilização a algum alimento, medicamento ou outras substâncias.

E sendo muito variável a capacidade de sensibilização à penicilina, pode ser adquirida ao primeiro contato.

Em nossas pesquisas, encontramos para o leite em pó e "in natura" potências do antibiótico que variaram de 0,05 a 0,5 unidades por grama ou mililitro do produto examinado, ou seja respectivamente 5 e 50 unidades por 100 mililitros, cêrca de um copo de leite reconstituído.

Nos Estados Unidos entretanto a maioria dos alergistas consultados afirmou que em casos especiais 2 a 3 unidades de penicilina ingeridas produziram uma reação do tipo anafilactóide em pessoas com alto grau de sensibilização e que havia suspeitas de que a penicilina veiculada no leite estivesse sendo a causa da urticária recorrente freqüentemente encontrada<sup>5, 72, 75, 76</sup>.

Em vista dos fatos analisados, foi recomendado nos Estados Unidos o afastamento da ordenha do leite, para uso humano e industrial, do gado submetido a tratamento anti-

mastítico, por um período não inferior a 72 horas ou pelo período de tempo requerido para a eliminação dos antibióticos, em se tratando de outras terapias e de outros morbos, sendo obrigatória a impressão dessas recomendações no rótulo das drogas empregadas.

E no caso das pastas anti-mastíticas recomendou-se a adição de corantes ou substâncias fluorescentes ao medicamento como verdadeiros marcadores. Essas substâncias se eliminariam no leite ao mesmo passo que os antibióticos, dando a avaliação visual do fenômeno.

Foi igualmente desenvolvido um extenso programa de esclarecimento junto aos veterinários, zootecnistas, fazendeiros e sitiantes, às usinas de beneficiamento do leite, às revistas de agricultura, e pela imprensa jornalística pelos seus suplementos agrícolas, pelo rádio e TV, através de freqüentes programas rurais de elucidação<sup>2</sup>.

Tendo em vista que no leite os antibióticos são potencialmente iatrogênicos, as medidas visando o consumo de um produto isento de tais drogas promoveria igualmente o consumo de sub-produto livre de contaminação, principalmente o leite em pó.

De fato, os métodos usados comumente para o beneficiamento do leite, a pasteurização e o resfriamento não afetam os antibióticos<sup>2, 12</sup>. O leite em estado de cru sofre uma série de operações industriais: pasteurização, evaporação, secagem e resfriamento, de acôrdo com a finalidade do seu uso "in natura", em pó ou condensado.

E embora nenhum resíduo antibiótico fosse encontrado no queijo, manteiga, leite em pó ou leite evaporado, pela "Food and Drug Administration", em pesquisas realizada em 1954, HANSEN, WIGGINS & BOYD<sup>77</sup> demonstraram que os antibióticos estavam presentes no leite em pó obtido de misturas de leites líquidos contendo um por cento do leite ordenhado de vacas cujos úberes tinham sido recentemente tratados com antibióticos.

E HANSEN e ELLICKSON<sup>apud 2</sup>, buscando resíduos de penicilina no leite em pó desnatado, encontraram amostras contendo entre 0,5 a 2,5 unidades por grama, potências bem maiores que as por nós evidenciadas, em São Paulo.

Não obstante a importância do assunto pôsto em tela há quase duas décadas, o regulamento federal brasileiro da inspeção in-

dustrial e sanitária de produtos de origem animal<sup>78</sup>, aprovado em 1952 e parcialmente modificado<sup>79</sup> em 1962, embora recomende, como principal critério para a avaliação da contaminação microbiana do leite tipo C, a prova da redutase, não cuidou também de exigir em especial a pesquisa de substâncias inibidoras que afetam os resultados obtidos para aquela prova. O mesmo acontece para a exigência regulamentar expressa no artigo 537, parágrafo 3.º e 4.º<sup>78, 79</sup> onde, embora declare de início que o leite não deve estar adulterado ou fraudado, diz entre outras coisas que a acidez não pode ser superior a 18ºDornic e, no parágrafo 5, que não podem os leites crus destinados aos tipos “A”, “B” e “C” revelar, na prova de redutase, contaminação excessiva com descoramento em tempo inferior a 5 horas para o tipo “A”, 3h30m para o tipo “B”, 2h30m para o tipo C e leite magro sem fazer referência especial às substâncias inibidoras.

No artigo 540 informa entre itens diversos que para indicar o padrão bacteriológico do leite cru destinado ao tipo “A” e “B” emprega-se o método de contagem microbiana que não deve ser superior respectivamente a 10 000 e a 500 000 antes da pasteurização.

Tôdas essas provas sofrem influência marcante dos inibidores veiculados pelo leite e cuja presença é capaz de determinar um tipo fictício de leite devendo, pois, a sua presença ser considerada uma fraude e ser exigida liminarmente a sua ausência, para se poder aceitar como válidos os resultados fornecidos por aquelas provas de rotina, sem o que poderá ser subvertida a elevada capacidade julgadora dos laboratórios bromatológicos e os resultados obtidos inapelavelmente falseados.

Tendo em vista o interesse do assunto, por iniciativa da Divisão Técnica de Laboratórios da Cooperativa Central de Laticínios do Estado de São Paulo, pioneiramente, já em 1966, com o concurso de um grupo escolhido de tecnólogos, foi levado a efeito na Capital de São Paulo a pesquisa de inibidores bacterianos, com a finalidade de situar o grau de contaminação química e bioquímica de cerca de um milhão de litros de leite diariamente consumidos pela população paulistana<sup>5, 48</sup>.

Tal pesquisa coincidiu com a oportuna reformulação do Regulamento de Inspeção Federal, que se está processando, e com o recebimento da circular n.º 43, de 8 de julho

de 1966, da Inspeção de Produtos Agropecuários e Materiais Agrícolas de São Paulo, solicitando sugestões para a apreciação da Comissão encarregada da revisão. Em ofícios distintos enviados em 1966, respectivamente pela Cooperativa Central de Laticínios do Estado de São Paulo, e pelo Departamento de Produção Animal da Secretaria da Agricultura de São Paulo, sugerimos, entre outros itens, o acréscimo de três novos artigos e modificações parciais nos de número 514, 537 e 540, para a constituição do novo Regulamento.

Nos artigos a serem criados, sugerimos tornar obrigatório o afastamento da ordenha do leite para uso industrial ou humano do gado submetido a tratamento com drogas de origem química ou bioquímica capazes de produzir resíduos inibidores no leite, enquanto durar o tratamento; o afastamento do animal submetido a tratamento local antimastítico por não menos de 72 horas após o emprêgo da última medicação; a exigência do emprêgo, tão somente, de medicamento anti-mastítico que declare no rótulo a medida acima preconizada; e a incorporação a esses medicamentos quando para uso local, de substâncias não tóxicas, capazes de corar o leite do animal tratado, como indicadores da terapêutica em decorrência.

No artigo 514, aonde o parágrafo único diz ser proibido o emprêgo de substâncias químicas na conservação do leite, acrescentamos também as bioquímicas.

No artigo 537 que diz só pode ser beneficiado leite considerado normal, sugerimos modificar unicamente o item 3 que diz “esteja adulterado ou fraudado, revele presença de colostro ou leite de retenção” acrescentando “não revele, após aquecimento a 80°C, durante 5 minutos, presença de substâncias inibidoras do crescimento bacteriano.

E finalmente no artigo 540, aonde diz “Para a determinação do padrão bacteriológico das enzimas do leite, adote-se a prova da redutase para o leite cru; fosfatase, peroxidase, contagem microbiana e teste de presença de coliformes, para o pasteurizado” solicitamos acrescentar “Pesquisa da presença de substâncias inibidoras direta ou indiretamente adicionadas ao leite.

Entretanto esta pesquisa da presença de inibidores no leite em pó, que é um sensível complemento da já efetuada com o leite “in natura”, e outras que venham a ser feitas,

marcarão cada vez mais o descompasso entre a esfera do progresso técnico e a do setor de fiscalização dos Serviços de Saúde Pública, respectivos, devido quase sempre à não atualização mais freqüente dos regulamentos em vigência.

Todavia, o caminho da regulamentação de inspeção não é tão somente o da imposição de novos regulamentos normativos, sendo certo que essas medidas só se tornarão realidade efetiva quando ao mesmo passo se desenvolver uma vasta campanha de elucidação visando esclarecer o homem do campo, seja o pequeno ou o grande produtor.

#### RESUMO

Em 1966, demonstrávamos pela primeira vez no Brasil, que existe contaminação penicilínica no leite "in natura" de consumo da Capital — cerca de 1 milhão de litros diários.

Tornou-se imperioso pois, em decorrência, o desenvolvimento de igual pesquisa em relação ao seu derivado mais direto, o leite em pó.

A partir de métodos baseados na inibição do crescimento de germes de prova, ou seja, o da placa-agar-esporos de *Bacillus subtilis* A.T.C.C., 6633, o da redução do C.T.T. (cloreto de 2-3-5 trifetil tetrazólio), e da pesquisa do grau maior ou menor da acidez do leite semeado com *Streptococcus termophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*, chegamos à conclusão de que o leite em pó integral do consumo em S. Paulo veicula igualmente penicilinas em potências variadas de 0,05 a 0,5 U/g e veicula também inibidores microbianos outros, não identificados, possivelmente também antibióticos.

Tendo em vista os fatos analisados, a nosso ver urgentes medidas devem ser tomadas, tais como:

1. Promoção governamental de uma pesquisa de âmbito nacional que exprima a situação real global do problema.

2. Desenvolvimento de uma campanha de esclarecimento visando afastar da ordenha o gado em tratamento antibiótico ou sulfamídico.

3. Emprêgo adequado do antibiótico-suplementação nas rações alimentares bovinas.

4. O rigoroso policiamento sanitário, determinando, em todo laboratório de controle higienico de leite, sistemático exame do produto advindo do interior, topograficamente região por região, visando localizar os focos de produção do leite inquinado e o seu saneamento dentro do prazo o mais rápido possível. E o estabelecimento de critério que considere fraudado o leite veiculando reiteradamente substâncias inibidoras do crescimento microbiano, principalmente se antibiótico, quer acrescentado direta ou indiretamente.

*Agradecimentos* — Externamos os nossos profundos agradecimentos à Cooperativa Central de Laticínios do Estado de São Paulo, ao Departamento de Produção Animal da Secretaria da Agricultura de São Paulo e à Laborerápica-Bristol S.A. pela valiosa cooperação fornecida à execução das nossas pesquisas.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FLEMING, A. — On the antimicrobial action of cultures of a *Penicillium* with special reference to their use in the isolation of *B. influenza* Brit. J. Exp. Path. 10: 22-9, 1929.
2. MART, E. H. & ELLICKSON, B. E. — Antibiotic residues in milk and milk products. A review. J. Milk Fd. Technol 22:241-9, 1959.
3. MART, E. H. — Antibiotics in milk. A review. Recent developments. J. Milk Fd. Technol. 24:36-44, 1961.
4. VAID, M. Y.; PROUTY, C. C.; SHAW, A. O. & WATTS, R. E. — Penicillin levels in milk following parenteral administration of procaine penicillin G. J. Milk Fd. Technol. 24:7-10, 1961.
5. MELLO FILHO, A.; SANDOVAL, L. A.; RODRIGUES, N. R. & XIMENES, J. — Inibidores bacterianos no leite de consumo da Capital. Rev. Inst. Adolfo Lutz 25/27:69-94, 1965/67.
6. CECILIA, C. A. — Enciclopedia de la leche. Madrid, Espasa-Calpa, 1956.
7. MELLO, A. — O leite. Alguns aspectos relacionados aos fenômenos da nutrição, da industrialização e da produção. Bolm. Ind. Aním. 6(3):3-8, 1943.

MELLO FILHO, A.; SANDOVAL, L. A.; RODRIGUES, N. R.; XIMENES, J. & MATOS, D. B. — Inibidores bacterianos, em especial a penicilina, no leite em pó de consumo da Capital. Rev. Inst. Adolfo Lutz 28:27-41, 1968.

8. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ — Comité mixte FAO/OMS d'experts de l'hygiène du lait. Maladies transmises par le lait. Premier rapport. Genève, O.M.S., 1957. Sér. Rapp. Techn. 124, p. 11-23.
9. SCHROEDER, S. A. — What the sanitarian should know about *Salmonellae* and *Staphylococci* in milk products. J. Milk Fd. Technol. 30:376-380, 1967.
10. ANDERSON, P. H. R.; STONE, D. M. — Staphylococcal food poisoning associated with spray dried milk. J. Hyg. Camb. 53:389-397, 1955.
11. ARNIJO, R.; HENDERSON, D. A.; THIMOTHEO, S. & ROBINSON, H. B. — Food poisoning outbreaks associated with spray dried milk. An epidemiologic study. Amer. J. Publ. Hith. 47:1093-100, 1957.
12. ROGICK, F. A. — Doenças transmissíveis ao homem pelo leite e derivados. Zootecnia, S. Paulo (Brasil) 4(3):31-52, 1966.
13. HAMMER, B. W. & BABEL, F. J. — Dairy bacteriology. 4 ed. Chapman, London, 1957.
14. ROSSEL, J. M. & SANTOS, I. — Métodos analíticos de laboratório lactológico y microbiología de las industrias lacteas. Barcelona, Labor, 1952. Tomo II.
15. ROGICK, F. A.; PORTO, E. & GONÇALVES, M. — A mastite sub-clínica no rebanho produtor do leite tipo "B". Bol. Ind. Animal 22:91-120, 1964.
16. NELSON, F. E. — Control and treatment of mastitis in cows. Milk Pl. Mon. 45(4):27-30, 1956.
17. EDMONDSON, J. E. & MERILAN, C. P. — Controlling mastitis increases income. Milk Pl. Mon. 45(5):37-41, 1956.
18. COURTER, R. D. & GALTON, M. M. — Animal staphylococcal infections and their public health significance. Amer. J. Publ. Hith. 52:1818-1827, 1962.
19. REIS, J. & SWENSON, A. — Flora estreptocócica das mamites esporádicas. Archos. Inst. Biol. S. Paulo 4:143-90, 1931.
20. SILVA FILHO, F. S. — Pesquisa de estreptococos causadores de mastite em rebanhos leiteiros. Bol. Ind. Animal 5(4):190-4, 1942.
21. LACERDA JUNIOR, P. M. G.; ZANI NETO, G. L. & FREITAS, D. C. — Estudo sôbre as mastites bovinas. Parte I. Rev. Fac. Med. Vet. Univ. S. Paulo 5(1):55-64, 1953-4.
22. LACERDA JUNIOR, P. M. G.; ZANI NETO, G. L. & FREITAS, D. C. — Estudo sôbre as mastites bovinas. Parte II. Rev. Fac. Med. Vet. Univ. S. Paulo 5(1):65-7, 1953-4.
23. REZENDE, M. L. R. *et alii* — Estudo dos problemas sanitários e econômicos das granjas de leite "A". Bol. Ind. Animal 20:63-8, 1962.
24. LAING, M. C. & MALCON, J. F. — The incidence of bovine mastitis with special to the non-specific condition. Vet. Rec. 68(20):447-55, 1956.
25. BLACKBURN, P. S. — Reviews of the progress of dairy science. J. Dairy Res. 25(3):535-64, 1958.
26. VEISSEYRS, R. — Techniques laitières modernes. Production, traitement, transformation du lait. Paris, La Maison Rustique (Librarie de l'Académie d'Agriculture), 1957.
27. ORGANIZATION DES NATIONS UNIES POUR L'ALIMENTATION ET L'AGRICULTURE. — Comité mixte FAO/OMS d'experts de l'hygiène du lait. Deuxième rapport. Geneve, FAO, 1960. Sér. Rapp. Techn. 197 p. 11-3.
28. D'APICE, M. — Antibióticos em medicina veterinária. In LACAZ, C. S. Antibióticos. São Paulo, Prociensx, 1965.
29. PROUTY, C. C. — Further observations of penicillin levels in milk following intramuscular and intrauterine administration. J. Milk Fd. Technol. 24:356-7, 1965.
30. SCHIPPER, I. A.; FILIPOVS, D. & EBELTORD, H. — Penicillactia following intramuscular administration of penicillins. J. Milk Fd. Technol. 28:1-4, 1965.
31. ORGANISATION MONDIALE POUR LA SANTÉ — Questions de santé publique procece pour l'introduction d'antibiotiques dans les aliments de l'Homme et des animaux domestiques. Genève, O.M.S., 1963. Ser. Rapp. Techn. no. 260.
32. MUCCIOLO, P. — Antibióticos na conservação de alimentos. In LACAZ, C. S. Antibióticos. São Paulo, Prociensx, 1965.
33. TARR, H. L. A. — Chemical inhibition of growth of fish spoilage bacteriae. J. Fish Res. Bd. Can. 6:257-262, 1944.
34. TARR, H. L. A. — Experimental preservation of fresh foods with antibiotics. Fd. Technol. 6:363-6, 1952.

MELLO FILHO, A.; SANDOVAL, L. A.; RODRIGUES, N. R.; XIMENES, J. & MATOS, D. B. — Inibidores bacterianos, em especial a penicilina, no leite em pó de consumo da Capital. Rev. Inst. Adolfo Lutz 28:27-41, 1968.

35. DEATHERAGE, F. E. — Use of antibiotics in the preservation of meat and other food products. Amer. J. Publ. Hlth 47: 594-600, 1957.
36. LACAZ, C. S. — Antibiótico e controle microbiológico das fermentações. Em seu "Antibióticos". São Paulo, Prociex, 1965.
37. AQUARONE, E. — Influência de antibióticos na fermentação alcoólica do mosto de melação de cana. São Paulo, 1959. Tese. Fac. Farm. Bioq. Univ. S. Paulo.
38. CURRAN, H. R. & EVANS, F. R. — The activity of penicillin in relation to bacterial spores and the preservation of milk. J. Bact. 52:89-98, 1946.
39. FOLEY, E. J. & BYRNE, J. V. — Penicillin as an adjunct to the preservation of quality of raw and pasteurized milk. J. Milk Technol. 13:170-4, 1950.
40. AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION — Council on Drugs — Penicillin and other antibiotics in milk: report. J. Amer. Med. Assoc. 171:135-7, 1959.
41. KOSIKOWSKY, F. N.; HENNINGSON, R. W. & SILVERMAN, G. J. — The incidence of antibiotics, sulfa drugs and quaternary ammonium compounds in the fluid milk supply of New York State. J. Dairy Sci. 35:535-9, 1962.
42. MARTH, E. H. — Antibiotics in milk. A review. I. Methods for detection of antibiotics in milk. J. Milk Fd. Technol. 24:70-82, 1961.
43. SHIVELER, G. & WEISER, H. — The effect of selected antibiotics upon the survival of microorganisms in raw and pasteurized milk. J. Milk Fd. Technol. 16: 125-7, 1953.
44. STOLZ, E. I.; HANKINSON, D. J. — The effects of antibiotics on the bacterial plate counts of normal raw milk. J. Milk Fd. Technol. 16:157-9, 1953.
45. BERRIDGE, N. J. — Penicillin in milk. III. The effect on low concentration of penicillin on the rate of acid production by starter cultures. J. Dairy Res. 23: 348-54, 1956.
46. WITEHEAD, H. R. & LANE, D. J. — The influence of penicillin on the manufacture and repping of cheddar cheese. J. Dairy Res. 23:355-60, 1956.
47. RICHARDS, R. J.; KENNEDY, H. E. & GOULD, I. A. — Antibiotics resistance and acid production cultures belonging to the Genus *Streptococcus*. J. Milk Fd. Technol. 24:317-20, 1961.
48. MELLO FILHO, A.; SANDOVAL, L. A.; RODRIGUES, N. R. & XIMENES, J. — Inibidores bacterianos no leite tipo C, dado ao consumo na Capital (Nota preliminar). Revta. Ass. Paul. Med. 69: 264-5, 1966.
49. MELLO FILHO, A.; SANDOVAL, L. A.; RODRIGUES, N. R.; XIMENES, J. & MATOS, D. B. — Pesquisa de substancias inibidoras, em particular a penicilina, no leite em pó de consumo na cidade de São Paulo (Nota prévia) Revta. Paul. Med. 72(3):160-1, 1968.
50. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION — Standard methods for the examination of dairy products. 11. ed. New York, A.P.H.A., 1960.
51. ARRET, B. & KIRSHBAUM, R. — A rapid disc assay method for detecting penicillin in milk. J. Milk Fd. Technol. 22: 329-331, 1959.
52. MILK INDUSTRY FOUNDATION — Laboratory manual of analysis of milk and its products. Washington, 1959.
53. KOLMER, J. A.; HEARLE, H. S. & HOWARD, W. R. — Approved laboratory Technic. 5. ed. New York, Appleton, 1951.
54. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION — Standard methods for the examination of dairy products. 12. ed. New York, A.P.H.A., 1967.
55. BRASIL. Instituto Adolfo Lutz — Métodos de análises bromatológicas. I. Análises químicas. São Paulo, Revta. Tribunais, 1951. 751 p.
56. STORRS, F. C. & HIETT-BROWN, W. — The incidence of penicillin in milk supplies. J. Dairy Res. 21:337-41, 1954.
57. BERRIDGE, N. J. — Penicillin in milk. II. The incidence of penicillin. J. Dairy Res. 23:342-7, 1956.
58. LUCK, H. — The use of hydrogen peroxid as a dairy preservation. Dairy Sci. Abstr. 18:364-6, 1956.
59. TERPLAN, G. & ZAADHOF, J. — Zum Vorkommen und Nachweis von Hemmstoffen in der milch-eine kurze Übersicht. Milchwissenschaft 22(12):761-71, 1967.
60. REITER, B. & ORAN, J. D. — Bacteriae inhibitors in milk and other biological fluids. Nature, Lond. 216:328-30, 1967.
61. LANGLOIS, B. E.; LIAKA, B. J. & HILL, D. L. — The effects of processing and storage of dairy products on chlorinated insecticides residues. J. Milk Fd. Technol. 28:9-11, 1965.

MELLO FILHO, A.; SANDOVAL, L. A.; RODRIGUES, N. R.; XIMENES, J. & MATOS, D. B. — Inibidores bacterianos, em especial a penicilina, no leite em pó de consumo da Capital. Rev. Inst. Adolfo Lutz 28:27-41, 1968.

- 
62. MENDES, E. — Reações alérgicas aos antibióticos. In LACAZ, C. S. — Antibióticos. 1. ed. São Paulo, Prociencx, 1965.
63. BASTOS, C. O. — Considerações sobre o emprego de antibióticos na prática médica e seus acidentes. In PRADO, F. C.; RAMOS, J. & VALE, J. R. — Atualizações terapêuticas. São Paulo, Edit. Artes Médicas, 1958. p. 1125.
64. ROTBERG, A. — Alergia a penicilina. (Revisão da Literatura e nota sobre prevenção). Revimédica 1(2):250-6, 1956.
65. SILVA, B. B.; SIMÕES, E. V.; SILVA, P. & CAPP, B. B. — Acidentes da penicilino-terapia. Publicões. Med. 25:(205):1017, 1959.
66. HSU, I. & EVANS, J. M. — Untoward reactions to benzathine penicillin in adults. New Eng. J. Med. 259(12): 581-5, 1958.
67. WELCH, H.; LEWIS, C. N.; WEINSTEIN, H. I. & BOECKMAN, R. B. — Severe reactions to antibiotics. A nation wide survey. Antibiotic Med. Clin. Ther. 4(12):800-6, 1957.
68. LACAZ, C. S. — Problemas decorrentes da antibioticoterapia. Em seu Antibióticos. São Paulo, Prociencx, 1965.
69. MELLO FILHO, A.; RODRIGUES, F. S. & RODRIGUES, N. R. — Métodos rápidos de verificação de penicilina no sangue de doadores, como tentativa de profilaxia do choque e outras manifestações alérgicas. Revta. Paul. Med. 72(3): 158-9, 1968.
70. MEIRA, D. A. — Penicilinas semi-sintéticas. In LACAZ, C. S. Antibióticos. São Paulo, Prociencx, 1965.
71. BASSOI, O. N. & MENEZES, J. P. — As novas penicilinas semi-sintéticas. Cadern. Terap. Labor 6(1-6):28-32, 1963.
72. STEWART, G. T. — The penicillin group of drugs. Amsterdam, Elsevier Publishing Company, 1965.
73. MARTIN, W. Y. — Newer penicillins. Med. drugs. Amsterdam, Elsevier Publishing Company, 1965.
74. ESKINE, D. — Dermatitis caused by penicillin in milk. Lancet 1(1):431-2, 1958.
75. VICKERS, H. R.; BAZUTUNI, L. & SUZANNE, A. — Dermatitis caused by penicillin in milk. Lancet 1(1):351-2, 1958.
76. ZIMMERMAN, M. C. — Chronic penicillin urticaria from dairy products proved by penicillinase cures. Archs. Derm. Syph. 79:1-6, 1959.
77. HANSEN, H. C.; WIGGINS, G. E. & BOYD, J. C. — Modern methods of mastitis treatment cause trouble in the manufacturing of fermented dairy products. J. Milk Fd. Technol. 13:359-65, 1950.
78. BRASIL — Divisão de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. (Aprovado pelo Decreto 30.691 de março de 1952). Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 1952.
79. BRASIL — Divisão de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Decreto n.º 1255 de 25 de junho de 1962. Altera o Decreto 30.691, de 29 de março de 1952, que aprovou o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 1962.

Recebido para publicação em 12 de setembro de 1968.



## DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DAS SALMONELAS DE ORIGEM ANIMAL, SUA IMPORTÂNCIA E FREQUÊNCIA NO MUNICÍPIO DE S. PAULO (1)

### BACTERIAL DIAGNOSIS OF SALMONELLA OF ANIMAL ORIGIN. ITS IMPORTANCE AND FREQUENCY IN SÃO PAULO, BRAZIL

AUGUSTO DE ESCRAGNOLLE TAUNAY (2)

#### SUMMARY

The confrontation of several different bacteriologic methods made possible the establishment of a routine procedure which permits the isolation and accurate typing of bacteria of the Salmonella group most frequently responsible for human infections.

The results are comparable to those obtained by other authors who studied the subject in this same region or in other areas of Brazil. It was established that Salmonella of animal origin accounted for 9.8% of acute gastro-intestinal infections observed in 712 children, aged 1 month to 5 years. We could verify that for other age groups (newborns) or in the benign forms of the disease these occur in a very low percentage.

This does not imply that the newborn is less susceptible, as it was found that, if conditions are favourable, transmission occurs easily, and often under severe septicemic forms.

The finding of a considerable high number of human carriers showed that this area must present favourable conditions for the spreading of the disease. Some of the carriers were eliminating the germ in the urine, a fact which we could not account for.

Dogs, flies and cockroaches were not important focus of infection in this regions. The study was carried through a period of 17 years, during which faeces of 35.705 individuals were examined, most of them adults with or without intestinal symptoms, and 720 members of the Salmonella group of 19 different serotypes were isolated. From these, the most frequent were *S. newport* (19.88%), *S. anatum* (17.70%), *S. typhimurium* (11.12%) e *S. derby* (10.01%).

#### I — INTRODUÇÃO

O crescimento exagerado da população no município de São Paulo nos últimos 20 anos, a expensas da intensa migração da zona rural do Estado bem como de outras unidades da Federação, trouxe como conseqüência o agravamento das condições sanitárias, dadas as dificuldades em manter nas proporções satisfatórias os elementos básicos de saneamento da cidade, em face das deficiências do sistema de abastecimento de água e, principalmente, da rede de esgotos. Acrescido a êsses problemas, o aumento exagerado do custo de vida levou os menos favorecidos a se aglo-

merarem em favelas que se ressentem de um mínimo de conforto, obrigando-os a uma vida em ambiente de absoluta falta de higiene.

Diante dessa situação, é fácil compreender que estejam presentes tôdas as condições favoráveis para as doenças cuja transmissão se faz através dos excretos.

Não sendo entre nós as moléstias produzidas por enterobactérias de notificação compulsória, e visto que na maioria das vezes o diagnóstico etiológico de uma infecção entérica deixa de ser feito, os coeficientes de mortalidade e morbidade não revelam a ver-

(1) Tese de doutoramento apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos.

(2) Do Instituto Adolfo Lutz e da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos.

dadeira situação epidemiológica peculiar a essas infecções, que representam provavelmente ainda um dos mais sérios problemas de saúde pública no município de São Paulo, constituindo ademais uma das causas mais importantes da mortalidade infantil.

A metodologia necessária para se chegar à identificação correta de uma salmonela tem prejudicado em países como o nosso a avaliação de sua importância na patologia humana e animal. Tendo trabalhado com bactérias desse gênero, num período de mais de duas dezenas de anos, nosso escopo será o de demonstrar o que pode ser feito para esclarecimento do problema, desde que técnicas bacteriológicas simples, acessíveis a qualquer laboratório medianamente equipado, sejam usadas.

Após ligeiro esboço histórico, discutiremos a técnica bacteriológica que foi usada, mostrando as razões de nossa preferência, para depois tratar das salmoneloses em nosso meio onde são conhecidos quadros típicos e paratípicos desde fins do século passado, sem que tenham sido esclarecidos aí com precisão a incidência e a importância das salmoneloses de origem animal.

#### ESBOÇO HISTÓRICO

Antes da criação do gênero *Salmonella* por LIGNIÈRES<sup>35</sup> (1900), os membros desse grupo de microrganismos eram incluídos entre *Bacterium* ou *Bacillus*, a que se justapunha o nome da infecção que determinavam ou o local onde fôra isolada a bactéria pela primeira vez. Determinando quadros mórbidos idênticos, possuindo características bioquímicas e antigênicas semelhantes, era difícil estabelecer diferenciação entre êles.

SCHOTTMÜLLER<sup>49</sup> em 1903, fazendo a revisão do grupo, chegou a admitir não ser possível separá-los em espécies distintas, tôdas devendo ser denominadas *Bacillus paratyphicus* patogênico para o homem assim como para os animais, nos quais podia produzir desde quadros de intoxicação alimentar até quadros típicos severos.

No entanto, fatos de observação clínica bem como dados epidemiológicos demonstravam desde logo diferenças nítidas entre a patogenicidade do *Bacillus paratyphicus*, descrito por ACHARD & BENSUADE<sup>1</sup>, em 1896, e do *Bacillus typhimurium*, descrito por LOEFFLER<sup>36</sup> em 1892.

A introdução de provas de patogenicidade para animais, principalmente para o rato, permitiu aos pesquisadores do Instituto de Higiene da Universidade de Kiel<sup>19</sup> (1908-1911) dividir as salmonelas em dois grupos: I — espécies adaptadas ao parasitismo humano; II — espécies de origem animal. A patogenicidade e a epidemiologia de cada grupo são distintas; no primeiro as salmonelas adaptadas ao homem produzem quadros típicos, manifestando-se em geral em casos isolados e sendo a fonte de infecção o próprio homem o qual com frequência não pequena se torna portador do germe. As de origem animal, quando infectam o homem, provocam quadro clínico que se caracteriza por intoxicação intestinal de curso rápido, com mortalidade baixa, sem que o doente se torne portador, e estando a infecção quase sempre ligada à ingestão de alimentos de origem animal.

Para os animais, principalmente os jovens, o que se observa é o inverso: processo infeccioso muito semelhante às formas típicas com invasão geral do organismo, com ou sem localização intestinal, alta mortalidade, ficando portadores de germes muitos dos que sobrevivem.

Êsses são, resumidamente, os pontos defendidos pelos pesquisadores do Instituto de Higiene de Kiel. Entretanto, muitos fatos observados mostravam que, também no homem, as chamadas salmonelas de origem animal podiam provocar quadro septicêmico ou infecções supurativas várias além do quadro clínico da intoxicação alimentar (WHITE<sup>65</sup>, 1929).

Por muitos anos, o conhecimento da patogenicidade das várias espécies de salmonelas foi impedido pela dificuldade na sua perfeita identificação e separação em tipos. A tentativa de agrupamento através de meios bioquímicos era de pouca valia, uma vez que tais enterobactérias possuem muitas propriedades comuns entre si e com outros microrganismos que nada têm a ver com elas. Por outro lado, a bioquímica afastava do gênero a *Salmonella typhi*, e espécie mais bem adaptada ao homem.

Foram os trabalhos pioneiros de SCHUTZE<sup>50</sup> (1920) depois prosseguidos por White (1929) que mostraram serem êsses germes possuidores de antígenos comuns e passíveis de identificação desde que fôssem feitas absorções apropriadas nos soros por êles produzidos, quando injetados em animal. Por outro la-

do, KAUFFMANN<sup>27</sup> (1930), seguindo a mesma orientação, chegou a resultados semelhantes.

Com o objetivo de alcançar um método que permitisse a individualização das bactérias pertencentes ao grupo, a comissão designada pela Seção de Taxonomia do Congresso Internacional de Microbiologia de 1930 publicou suas conclusões em 1934, assim terminando: "A convicção na sorologia como último critério na taxonomia do grupo resulta da experiência dos grandes serviços que a sorologia tem prestado, transformando um campo cheio de incertezas e de armadilhas, num setor no qual a identificação se tornou fácil, certa e intimamente relacionada com a patologia e a epidemiologia. Não se sugere que a classificação da bactéria deva ser baseada exclusivamente em critérios sorológicos. O verdadeiro campo da sorologia se baseia na diferenciação entre bactérias que estão intimamente relacionadas sob outros aspectos (morfologia ou bioquímica). Dentro de um tal grupo as diferenças sorológicas são tão definidas que podem ser válidas para a criação de espécies". Ao mesmo tempo, foi dada publicidade a um esquema da composição antigênica que é conhecido como "Esquema de Kauffmann-White", no qual foi adotada a terminologia usada por Kauffmann e aceita pela Associação Internacional dos Microbiologistas.

O esquema de Kauffmann-White parte do princípio de que quase todas as salmonelas são germes móveis, possuindo antígenos de corpo ou somáticos, designados pela letra "O", e de flagelos ou "H" segundo a terminologia proposta por WEIL & FELIX<sup>64</sup> (1917). Sendo os antígenos de corpo mais característicos da bactéria do que o flagelares, as salmonelas foram divididas em grupos conforme os antígenos somáticos que possuem. Havendo mais de um antígeno somático na mesma bactéria, aquele que não se repete em outras foi escolhido para determinar o grupo ao qual a bactéria deve pertencer. Cada grupo foi identificado por uma letra maiúscula do alfabeto e os antígenos de que se compõe a bactéria foram representados por algarismos romanos.

Como toda bactéria flagelada, as salmonelas possuem antígenos flagelares específicos. No entanto, ANDREWES<sup>2</sup> (1922) descreveu uma curiosa variação de fase dos antígenos flagelares de certas espécies que, em determi-

nadas circunstâncias, podem apresentar variantes nas quais aparece um segundo antígeno, que é comum a numerosas outras salmonelas. Assim, as salmonelas podem ser monofásicas possuindo somente antígenos flagelares específicos ou bifásicas nas quais podem estar presentes os antígenos da fase específica e o de grupo. Os antígenos da fase específica foram representados por letras minúsculas e os da fase não específica, por números.

Em vista disso, o esquema da Kauffmann-White foi planejado de forma a tornar possível acrescentar aos grupos somáticos conhecidos qualquer salmonela que apresentasse uma combinação diferente de antígenos flagelares. Ao mesmo tempo, havendo necessidade, novos grupos somáticos poderiam ser criados, desde que os seus componentes apresentassem relações antigênicas que possibilitassem encaixá-los dentro da espécie.

A primeira tabela publicada era composta de 5 grupos, com apenas 44 salmonelas. Atualmente existem mais de 1000 espécies antigênicas, daí a necessidade de atualização da mesma. Assim, alguns grupos somáticos foram divididos em sub-grupos e novos grupos foram criados, passando a anotação dos seus antígenos a ser feita por algarismos arábicos. As variações de fase anotadas como específicas e não específicas perderam a razão de ser uma vez que, conhecendo melhor a constituição antigênica das salmonelas, verificou-se que os antígenos flagelares específicos e não específicos se repetem pelos vários grupos somáticos. Assim, não havia mais razão para chamá-los específicos e não específicos e, em substituição à antiga denominação, hoje se prefere a de fase 1 e fase 2, conservando-se o mesmo sistema de anotação por letras e números. A cada combinação antigênica foi dado um nome, que em geral provém do local onde a bactéria foi encontrada pela primeira vez.

Essa maneira de proceder, permitindo elevar à categoria de espécie cada combinação antigênica diferente, tem sofrido diversas críticas e foi mesmo proposto que, à semelhança do que se faz com a *E. coli*, as salmonelas, sejam identificadas pela sua fórmula antigênica, atribuindo-se nomes específicos somente para as espécies patogênicas mais importantes. Esse ponto de vista entretanto não foi aceito e o método usado até hoje é o mesmo descrito em 1934 (KAUFFMANN<sup>30</sup> 1966).

Foi justamente utilizando esse critério de classificação que HORMAECHE, PELUFFO & ALEPPO<sup>24</sup> (1936) demonstraram de maneira precisa que o homem na primeira infância é extremamente sujeito a infecção por essas bactérias, para isso bastando que entre em contacto com pequena quantidade de germes. No caso particular das crianças, a patogenia da doença é semelhante à dos animais jovens, de acordo com a Doutrina de Montevideu: "A criança, sobretudo no seu primeiro ano de vida, tem uma sensibilidade muito maior que os adultos para as salmonelas dos animais, comportando-se a espécie humana de maneira semelhante a quase todos os animais, isto é, os jovens são muito mais sensíveis, podendo apresentar com maior frequência localizações extra-intestinais, sem quadro entérico".

Por outro lado, a constatação de componentes antigênicos idênticos aos das salmonelas em outras bactérias fez com que se procurasse delimitar o gênero por métodos bioquímicos, reservando as provas sorológicas para identificação de espécies, ou melhor, dos soro tipos.

Assim, no 8.º Congresso Internacional de Montreal, em 1962, foram as enterobactérias divididas em 4 grupos conforme suas afinidades bioquímicas (LE MINOR<sup>34</sup>, 1962).

No primeiro grupo, juntamente com *Arizona* e *Citrobacter*, estão as salmonelas, que são assim definidas: vasto grupo composto de perto de mil diferentes soro-tipos relacionados pelos seus característicos bioquímicos. Em geral, móveis, fermentando, com gás no mais das vezes, glicose, manitol e sorbitol; não fermentando nunca adonitol e salicina. Raramente fermentam a lactose. Não produzem indol. Não possuem urease e no meio de Clark-Lubs são VM + e VP —. Não se cultivam no meio de cianeto. Não possuem deaminase para fenilalanina e triptofano. Têm lisina-decarboxilase, exceptuando-se *S. paratyphi* A e *S. paratyphi-suis*. Bons produtores de gás sulfídrico com exceção de *S. paratyphi* A, *S. cholerae suis*, *S. senftenberg*, *S. sendai* e *S. abortus equi*. As patogênicas para o homem não liquefazem a gelatina.

Exceptuando-se as salmonelas adaptadas ao homem, sua importância médica era pouco conhecida em nosso meio.

Ao assumirmos em 1940 o encargo do laboratório de copro-bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, influenciados pelas pesquisas realizadas no Uruguai por HORMAECHE,

PELUFFO & ALEPPO<sup>24</sup> (1936), procuramos desde logo estabelecer um plano de trabalho que nos permitisse identificar com maior precisão os vários agentes etiológicos das síndromes diarreicas, tão frequentes entre nós. Os dados da literatura médica nacional, assim como os arquivos de nosso laboratório não indicavam serem importantes as salmonelas como agentes etiológicos de infecção intestinal, seja de adultos seja de crianças, em inteira contradição com aquilo que vinha sendo observado no Uruguai. A conselho do Prof. E. Hormaeche, quando de sua visita a nosso laboratório, modificamos técnicas que até então usávamos visando principalmente ao problema da infecção intestinal da criança. Quando, por iniciativa do Prof. Otto Bier, veio a São Paulo o Prof. Cyro A. Peluffo para demonstrar os métodos por ele empregados no despistamento das bactérias desse grupo, já tínhamos ciência de que em São Paulo o problema era semelhante ao do Uruguai e, graças a seu auxílio, muitas das nossas dúvidas foram esclarecidas e novo impulso foi dado ao trabalho.

## II — TÉCNICA BACTERIOLÓGICA

A introdução de novos meios de cultura assim como o emprego de técnicas de colheita local têm permitido melhorar muito a seleção de bactérias a serem isoladas das fezes de doentes portadores de infecções entéricas. Também com relação à diferenciação bioquímica dos vários grupos de enterobactérias, várias provas vêm sendo usadas e que são de grande utilidade ao diagnóstico diferencial, principalmente em se tratando de salmonelas que facilmente se confundem bioquimicamente com enterobactérias de patogenicidade duvidosa.

Não é nossa intenção fazer revisão do assunto mas sim demonstrar as razões que justificam o método bacteriológico por nós seguido desde a colheita das fezes até a identificação sorológica final.

### 1. COLHEITA DAS FEZES

A pesquisa bacteriológica pode ser feita nas fezes passadas normalmente ou obtidas mediante colheita direta no intestino. Deve ser feita logo após o aparecimento dos primeiros sintomas e antes do emprego de qualquer medicamento. No primeiro caso, é de grande vantagem o exame de fezes re-

centes, sendo de toda conveniência escolher as partes que mais interessam, em geral constituídas de muco ou muco e sangue. Escolhido o material a ser examinado, este será completamente desfeito num tubo contendo glicerina a 30% em solução de cloreto de sódio (aproximadamente 2 g de fezes para 20 cm<sup>3</sup> da solução de glicerina). Ao mesmo tempo, coloca-se a mesma quantidade de fezes num tubo com meio de enriquecimento. A semeadura em meio conservador (glicerina) é optativa; as fezes podem ser semeadas diretamente em meios seletivos desde que não haja um intervalo muito grande entre a emissão e o início do exame. O uso de meios de enriquecimento é obrigatório pelas razões que passamos a expor.

HARDY & WATT<sup>21</sup> (1944) descreveram um método de colheita retal que, pela facilidade de execução, seria o ideal para o exame de comunidades assim como de crianças por permitir colher material a qualquer tempo e em condições ótimas. Apesar de ter sido preconizado para a pesquisa de bacilos disentéricos, resolvemos experimentá-lo em vista das vantagens que oferece.

Inicialmente num grupo de 307 crianças portadoras de enterites agudas ou de simples diarreia, comparamos a colheita pelo *swab* e a semeadura das fezes emitidas naturalmente. Tal método se revelou excelente para isolamento de bacilos disentéricos (TAUNAY<sup>57</sup>, 1951) mas, quanto às salmonelas, os resultados não foram satisfatórios, porquanto ficou patente a obrigatoriedade do enriquecimento das fezes, conforme o demonstra a análise do quadro I.

QUADRO I

Comparação entre semeadura direta de fezes, "swab" e fezes enriquecidas

N.º exames	Método usado	N.º salmonelas isoladas
307	Semeadura direta do <i>swab</i>	1
307	Semeadura direta das fezes	1
307	Enriquecimento das fezes	6

Repetindo a mesma verificação (TAUNAY *et alii*<sup>58</sup>, 1956), desta vez em 124 adultos com história de enterocolite crônica, e fazendo exames repetidos com vários métodos em quatro dias diferentes, em um único caso conseguimos isolar uma salmonela pela colheita direta no reto, notando-se que a semeadura das fezes enriquecidas permitiu isolar mais 9 salmonelas, conforme se demonstra no quadro II.

QUADRO II

Colheita direta no reto pelo "swab" em adultos, em comparação ao enriquecimento

Método usado	N.º exames	N.º salmonelas isoladas
Semeadura direta do <i>swab</i>	124	1
Semeadura direta das fezes	124	0
Enriquecimento das fezes	124	10

Em 46 crianças da Clínica Pediátrica do Hospital das Clínicas da U.S.P., todas padecendo de enterites agudas, de quem semeamos fezes colhidas naturalmente e pelo método do *swab*, ficou comprovada novamente a deficiência do método do *swab* (TAUNAY *et alii*<sup>60</sup> 1958), conforme o quadro III:

QUADRO III

Colheita direta no reto pelo "swab" em crianças, em comparação ao enriquecimento

Método usado	N.º casos	N.º salmonelas isoladas
Semeadura direta do <i>swab</i>	46	1
Semeadura direta das fezes	46	1
Enriquecimento das fezes	46	7

Nos estudos comparativos que fizemos (TAUNAY<sup>57</sup> 1951, TAUNAY *et alii*<sup>58</sup> 1956, TAUNAY *et alii*<sup>60</sup> 1958), a colheita retal se mostrou vantajosa ou equivalente ao exame das fezes passadas normalmente quando pesquisamos bacilos disentéricos ou *E. coli* G.E.I.

Ao contrário, sempre foi muito inferior para o isolamento de salmonelas, em confronto aos métodos de enriquecimento.

Falhas da colheita retal foram apontadas por THOMAS<sup>62</sup> (1954) e mesmo por um dos seus preconizadores (HARDY & GALTON<sup>23</sup> 1955) mostrando que a colheita pelo *swab* retal do porco, feita logo após a morte do animal com o esfíncter relaxado, permite o dobro de isolamentos com relação ao animal vivo. Apesar de não persistirem dúvidas quanto à desvantagem do método, em 1959 HORMAECHÉ & PELUFFO<sup>26</sup> ainda o preconizam pelas facilidades que oferece.

Entretanto, a introdução da sonda de borraça para passagem do estilete de algodão, principalmente em crianças com processos entéricos agudos, provoca o reflexo da defecação. Nada mais fácil do que recolher as fezes que saem pela sonda num tubo contendo meio de enriquecimento.

## 2. MEIOS DE ENRIQUECIMENTO

Interessa na rotina do exame a escolha de um esquema econômico capaz de isolar simultaneamente vários tipos de bactérias intestinais empregando o menor número possível de meios que, combinados, permitem resultados satisfatórios.

Nas salmoneloses intestinais, o número de salmonelas presentes no bôlo fecal pode ser muito pequeno em confronto com o dos germes habitualmente presentes no intestino, o

que pode dificultar o isolamento das primeiras. Promover a sua multiplicação sem que a flora associada se desenvolva é a finalidade dos métodos enriquecedores, o que se consegue pela junção ao meio de cultura de elementos bacteriostáticos para a flora saprófita mas que não sejam prejudiciais para as bactérias que se pretende enriquecer. Vários meios desse tipo podem ser usados, havendo vantagens e desvantagens conforme a finalidade que se deseja atingir.

Inicialmente (TAUNAY, CORRÊA & FLEURY<sup>56</sup>, 1944) comparamos em condições idênticas a semeadura direta das fezes com a semeadura de fezes previamente enriquecidas em dois meios diferentes: meio de tetracionato de KAUFFMANN<sup>28</sup> e meio de RUYS<sup>45</sup>, utilizando material proveniente de crianças portadoras de síndrome diarreica aguda. No quadro IV estão transcritos os resultados que obtivemos.

Dos meios enriquecedores experimentados, o de tetracionato de Kauffmann se mostrou mais eficiente e as diferenças de 2 a 5 vezes a favor dos meios enriquecedores dispensam outra avaliação.

Repetimos a mesma verificação, usando fezes de adultos e crianças, na maioria adultos sem infecção intestinal aguda, empregando desta vez somente o tetracionato de Kauffmann, uma vez que o meio de Ruys se mostrara inferior. Os resultados estão expressos no quadro V.

### QUADRO IV

*Comparação entre semeadura direta e dois meios de enriquecimento*

	Semeadura direta	Enriquecimento em tetracionato de Kauffmann	Enriquecimento em meio de Ruys
N.º de casos	190	190	190
Positivos para salmonelas	6 (3,1%)	31 (16,3%)	11 (5,7%)

### QUADRO V

*Comparação entre semeadura direta e enriquecimento pelo meio de Kauffmann*

	Semeadura direta	Enriquecimento em tetracionato de Kauffmann
N.º de casos	1230	1230
Positivos para salmonelas	8 (0,6%)	25 (2,0%)

Vê-se que há uma diferença de três vezes mais a favor do método de enriquecimento. Como o fim visado não era somente o enriquecimento das salmonelas de origem animal e sim de todas e, se possível, de outras bactérias patogênicas, resolvemos experimentar outro meio que não fosse prejudicial à *S. typhi* e que também fosse útil para o isolamento de certos bacilos disentéricos.

Para esse fim, o meio escolhido foi o de Selenito F (KAUFFMANN<sup>29</sup>, 1954). No quadro VI estão reproduzidos os resultados de 820 exames realizados com material de procedência semelhante ao do ensaio anterior, concluindo-se que os dois meios são equivalentes.

Assim, dos três meios experimentados, dois foram mais eficientes e equivalentes e, pelas razões antes expostas, passamos a usar em nossas investigações o meio de Selenito F.

### 3. MEIOS SELETIVOS

São aqueles que permitem o crescimento dos germes que se procura isolar inibindo a flora associada. Além de seletivos, são diferenciais porque nêles as colônias a serem estudadas apresentam caracteres que permitem diferenciá-las das dos saprótios.

Não existe nenhum meio seletivo inteiramente satisfatório e nenhum deles chega à perfeição ou ao ideal de eliminar todos os saprótios permitindo só o crescimento dos patogênicos.

Alguns podem até ser prejudiciais aos desenvolvimento de certas bactérias patogênicas.

No caso particular das infecções intestinais, a multiplicidade dos agentes infecciosos obriga a utilizar mais de um meio seletivo e os resultados variarão segundo a combinação usada, conforme demonstraram HORMAECHE & SURRACO<sup>25</sup> (1941).

Ao assumirmos a direção do Laboratório de Coprobacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, os meios seletivos usados eram os de HOLT-HARRIS & TEAGUE (H.H.T.) e de ágar ácido rosólico<sup>9</sup>, ambos de fraco poder inibidor para a flora saprófita, razão porque resolvemos incluir no esquema do exame um meio altamente seletivo para o isolamento das salmonelas, o de Kristensen-Lester-Jürgens, juntamente com um meio exclusivamente diferencial: ágar-lactose-tormassol. No quadro VII estão expressos os resultados obtidos em ensaio comparativo (TAUNAY, CORRÊA & FLEURY<sup>56</sup> 1944).

Grandes diferenças podem ser obtidas por influência também dos meios seletivos que,

QUADRO VI

*Comparação entre meios de enriquecimento*

	Enriquecimento em tetrationsato de Kauffmann	Enriquecimento em meio de Selenito F
N.º de casos	820	820
Positivos para salmonelas	16(1,9%)	14(1,8%)

QUADRO VII

*Comparação entre meios seletivos e diferenciais após enriquecimento*

	Agás-ácido rosólico	Meio de Holt-Harris-Teague	Meio de Kristensen	Agar-lactose-tornassol
N.º de exames	190	190	190	190
Positivos para salmonelas	20(10,5%)	21(11%)	31(16,3%)	13(6,8%)

em virtude de seu poder inibidor para a flora saprófita, facilitam o isolamento das bactérias patogênicas que aí crescem em pontos isolados de fácil reconhecimento. Entretanto, o meio seletivo que melhor resultado apresentou, o de Kristensen-Lester-Jürgens, não se presta para o isolamento de bacilos disentericos, sendo também desfavorável para *S. typhi* em virtude de entrar em sua composição o verde brilhante. Outro meio seletivo, o ágar SS que não apresenta essa desvantagem pois que tem como inibidor, sais biliares foi experimentado. No quadro VIII estão os resultados da comparação feita com o mesmo material utilizado no ensaio reproduzido no quadro VI.

Em fezes enriquecidas não houve diferença entre os meios seletivos, mas o meio de ágar SS se mostrou superior ao de Kristensen-Lester-Jürgens quando semeados diretamente.

Tomando por base os resultados acima referidos, foram escolhidos para semeadura direta os meios de ágar SS e de Holt-Harris-Teague (H.M.T.) e após enriquecimento, os meios de Kristensen-Lester-Jürgens e de H.H.T. que foram as combinações que deram os melhores resultados para isolamento dos vários tipos de enterobactérias patogênicas. O meio de H.H.T. foi escolhido em virtude de seu fraco poder inibidor, permitindo o crescimento de tôdas as enterobactérias, ao contrário dos dois primeiros, que algumas vêzes são impedimentos para certas enterobactérias patogênicas.

*Semeadura* — No caso de semeadura direta das fezes, espanham-se com alça, pelo método de estrias sucessivas, pequenos fragmentos de muco ou de fezes sôbre a superfície de uma placa de ágar SS e uma de ágar de H.H.T..

Se a semeadura é feita a partir da emulsão de fezes na solução de glicerina, com uma alça grande colocam-se 4 gôtas da emulsão em pontos separados de uma placa de ágar SS, passando um bastão de vidro em L sôbre superfície para espalhar o material e, a seguir, o mesmo bastão é passado sôbre uma placa de H.H.T.

A partir dos meios de enriquecimento, a semeadura é feita colocando 4 gôtas do meio numa placa de Kristensen-Lester-Jürgens (K.L.J.), espalhando o material com um bastão em L, o qual será também passado em placa de H.H.T. Desenhando-se a letra "M" na superfície da placa, o material ficará bem espalhado; não se deve fazer pressão com o bastão sôbre o meio; seu simples pêso será suficiente para disseminar o material.

Quando as fezes são colhidas pelo *swab* retal, não é de boa prática usá-lo para semeadura direta porque dificilmente se obtêm colônias bem isoladas. É preferível suspender em solução salina o material contido no tampão de algodão para daí fazer as semeaduras.

Tôdas as placas, tanto as de semeadura direta como as semeadas a partir dos meios de conservação ou de enriquecimento, já previamente incubadas a 37°C por 24 horas, são colocadas em estufa até o dia seguinte.

*Inspeção e isolamento das colônias* — Examinam-se as placas sempre que possível com luz natural, de frente para uma janela. Nem sempre aparecem colônias com as características que adiante veremos (quadro IX) mas a experiência ensinará qual a colônia que deve ser considerada suspeita. Isolam-se de cada placa as colônias com os caracteres descritos no quadro IX. Procura-se atingir com a agulha (depois de fria) a colônia em seu centro, evitando, no máximo possível, iso-

#### QUADRO VIII

*Comparação entre meios seletivos com semeadura direta e após enriquecimento*

	Ágar SS	Meio de Kristensen-Lester-Jürgens
N.º de exames	820	820
N.º de salmonelas isoladas em semeadura direta	7(0,85%)	4(0,48%)
N.º de salmonelas isoladas após enriquecimento	14(1,8%)	16(1,9%)

QUADRO IX

Aspecto das colônias nos diferentes meios seletivos

Enterobactéria	Meio		
	Ágar K.L.J.	Ágar H.H.T.	Ágar SS
<i>Salmonella typhi</i>	Colônias vermelhas (crescimento escasso)	Colônias convexas brilhantes, em geral cor azul mais claro que o meio	Colônias sem cor, ou pouco amareladas. Em 48 horas a cor pode acentuar
<i>Salmonella sp.</i>	Colônias vermelhas	Semelhantes às do bacilo tífico	Em geral maiores que as anteriores
<i>Shigella sp.</i>	Crescimento inibido	Semelhante às do bacilo tífico	Semelhantes às do bacilo tífico. <i>Sh. sonnei</i> pode crescer, formando colônias muito grandes com centros amarelados
<i>Coliforme</i>	Colônias amarelo-esverdeadas	Colônias azul-negro ou com centro escuro	Crescimento inibido. Podem crescer colônias opacas, com tonalidade do róseo ao vermelho. Colônias maiores podem ter centro vermelho ou periferia branca ou amarela.
<i>Proteus sp.</i>	Colônias verdes	Colônias cor azul mais claro que o meio, com ou sem	Colônias sem cor, raramente com pseudópodos

lá-la de zonas onde as colônias não estejam bem separadas. Se isto não for possível, replica-se para uma placa de H.H.T., em estrias sucessivas, a colônia que não pôde ser separada da primeira vez.

Isolada a colônia, inocula-se no meio de tríplice açúcar modificado<sup>44</sup>, mergulhando a agulha na base e passando-a depois pela parte inclinada. Após a incubação de 24 horas em estufa, muitas indicações podem ser dadas pelo simples exame do tríplice-açúcar aconselhado neste método.

#### 4. IDENTIFICAÇÃO PRESUNTIVA

O sucesso do exame está em grande parte na dependência do número de colônias que são investigadas, sendo aconselhável isolar um mínimo de quinze colônias suspeitas. Todavia, a identificação posterior de todas essas colônias representa uma sobrecarga de trabalho muito grande, daí a ne-

cessidade de se introduzir um processo intermediário, econômico e pouco trabalhoso, que permita uma identificação presuntiva.

Diversos meios para esse fim têm sido propostos (KRUMWIEDE & COHN<sup>22</sup>, 1917; KLIGER<sup>31</sup>, 1918), quase sempre baseados na fermentação de dois ou três açúcares: dextrose, lactose e sacarose. Conforme as alterações do meio, pode-se separar facilmente as enterobactérias patogênicas que não fermentam — lactose e sacarose das saprófitas — que utilizam esses açúcares. Ao mesmo tempo, a inclusão da glicose permite verificar, para os não fermentadores da lactose e sacarose, se a bactéria é aerogênica ou não.

No decorrer de nossas investigações, o meio desse tipo usado foi o de três açúcares de Krumwiede, onde a bactéria investigada é semeada em profundidade na base e em superfície no ápice do meio. Entretanto, esse meio de triagem não diferencia bactérias

do grupo *Proteus* com as quais as salmonelas se confundem em alguns meios seletivos.

Necessário se fazia por isso procurar uma modificação que permitisse afastar também o grupo *Proteus* e em 1942 SURRECO & PEREIRA<sup>54</sup> descreveram um meio líquido para esse fim. Em nosso laboratório, as tentativas com esse meio não foram satisfatórias, motivo por que resolvemos experimentar uma modificação no tríplice-açúcar proposta por SINGER<sup>52, 53</sup> (1950), que consiste na adição da uréia a este meio. Com 245 colônias examinadas obtivemos os seguintes resultados expressos no quadro X.

Como demonstra a análise do quadro X, as alterações indicando a necessidade de identificação posterior são em número muito menor quando se usa o meio de SINGER<sup>52</sup>, permitindo a exclusão de 33 colônias que no meio de Krumwiede simulavam salmonelas. Todavia, o indicador de fermentação proposto por SINGER<sup>52</sup>, às vezes tornava difícil a interpretação das viragens do meio. Por proposta do biólogo Ettore Rugai, responsável pela Seção de Meios de Cultura do Instituto Adolfo Lutz, foi substituído o indicador proposto por SINGER<sup>52</sup> pelo indicador vermelho cresol, assim desaparecendo o

inconveniente apontado. Feita novamente a comparação, desta vez com número maior de colônias, obtivemos os resultados que estão reproduzidos no quadro XI.

A inclusão da uréia no tríplice-açúcar em nada prejudica a fermentação dos açúcares e dá uma importante informação que permite eliminar as bactérias do grupo *Proteus*.

A esse meio SINGER<sup>53</sup> (1950) propôs incluir também uma fonte de enxofre e um indicador permitindo também verificar se o germe é ou não produtor de gás sulfídrico, elemento muito importante para a caracterização das salmonelas.

Por mais de uma dezena de anos esse meio vem sendo usado em nosso serviço de rotina como meio intermediário para identificação presuntiva das enterobactérias sem que até hoje tenha mostrado qualquer inconveniente.

Outras versões do tríplice-açúcar modificado já foram divulgadas no Brasil, seja tornando mais fácil o seu preparo (BARACCHINI<sup>6</sup>, 1956) seja permitindo, além das informações acima descritas, verificar se a bactéria é móvel ou não (COSTA & VERNIN<sup>11</sup>, 1955).

#### QUADRO X

*Comparação entre tríplice-açúcar de Krumwiede e meio de Singer*

Meio de cultura	N.º de colônias	Colônias suspeitas	% colônias identificadas
Tríplice-açúcar	245	37	15
Meio de Singer	245	4	1,6

#### QUADRO XI

*Comparação entre o tríplice-açúcar de Krumwiede e o meio modificado*

Meio de cultura	N.º de colônias verificadas	Colônias suspeitas	% de colônias identificadas
Tríplice-açúcar Krumwiede	1 200	145	12
Tríplice-açúcar Krumwiede modificado	1 200	7	0,5

QUADRO XII

Alterações do tríplice-açúcar

Enterobacterias	Ápice	Base
<i>Salmonella sp.</i> <i>Arizona</i> <i>Citrobacter</i>	Alcalino (vermelho)	Acidificação com bôlhas de gás e produção de H <sub>2</sub> S (amarela com fundo preto)
<i>Shigella sp.</i> <i>Providencia</i> <i>Salmonella typhi</i>	Alcalino (vermelho)	Ácida. Em 48 horas, produção de H <sub>2</sub> S (amarela)
<i>Salmonella sp.</i> <i>Shigella</i> — B <sub>6</sub> <i>Providencia</i>	Alcalino (vermelho)	Acidificação com bôlhas de gás (amarela)
<i>E. coli</i> <i>Klebsiella</i> <i>Cloaca</i>	Ácido (amarelo)	Acidificação com bôlhas de gás (amarela)
<i>Proteus</i>	Alcalino (vermelho)	Alcalina (vermelha)
Alcaligenes	Alcalino (vermelho)	Inalterada
Reações sem valor	Não altera. Acidificação e gás. Alcalinização sem gás	Não altera. Acidificação e gás. Alcalinização sem gás.

As alterações que ocorrem no tríplice-açúcar modificado <sup>44</sup> e que possibilitam a identificação presuntiva estão resumidas no quadro acima.

### III — IDENTIFICAÇÃO BIOQUÍMICA

Não havendo características bioquímicas que abranjam tôdas as salmonelas, o critério a ser adotado é o de que nenhuma prova tomada isoladamente é suficiente para excluir ou incluir no gênero uma determinada bactéria, sempre havendo necessidade de comprovação sorológica.

Todavia, como as salmonelas do homem têm quase sempre um comportamento bioquímico bastante uniforme, a experiência tem

demonstrado que, através de um certo número de provas, podem ser identificadas com relativa segurança.

No quadro XIII estão transcritos os resultados relativos ao comportamento bioquímico de 180 sôro-tipos de salmonelas isoladas nestes últimos anos.

Como se pode observar nesse quadro, a utilização da lactose ou sacarose, a produção de indol ou o desdobramento da uréia são características que permitem excluir do gênero salmonella qualquer bactéria que apresente uma dessas propriedades.

Veza por outra, são encontradas enterobactérias que também sem comportam de maneira semelhante à descrita no quadro XIII.

QUADRO XIII  
Identificação bioquímica

Substrato	N.º de cepas	Resultado	
		Positivo	Negativo
Glicose	180	100% (c/gás)	0%
Lactose	180	0%	100%
Sacarose	180	0%	100%
Sorbitol	180	98% (c/gás)	2%
H <sub>2</sub> S	180	90%	10%
Citrato	180	87,2%	12,8%
Uréia	180	0%	100%
Índol	180	0%	100%

Pertencem ao mesmo grupo bioquímico e podem ser diferenciadas desde que outras atividades enzimáticas sejam investigadas, separando-as em três grupos: *Salmonella*, *Arizona* e *Citrobacter*.

No quadro XIV estão representados os resultados obtidos na diferenciação bioquímica dos grupos *Salmonella*, *Arizona* e *Citrobacter*, por meio de provas da nossa rotina de exame: utilização de dulcitol, de malonato e pesquisa da beta-galactosidase (O.N.P.G.) e soro-aglutinação.

A pesquisa da betagalactosidase, usando como substrato o ortonitrofenil-beta-D-galactopirâmido (O.N.P.G.), evidencia toda bactéria potencialmente fermentadora da lactose (LE MINOR<sup>34</sup>, 1962), o que permite excluir do gênero *Salmonella* qualquer germe que tenha essa enzima, portanto todos os *Citrobacter* e alguns *Arizona*. Através da utilização do dulcitol e do malonato, é possível diferenciar os grupos *Salmonella* e *Arizona*.

No quadro XV estão relacionadas as alterações que ocorrem no triplice-açúcar e o caminho que deve ser seguido na diferenciação bioquímica, relaciona também as provas atualmente em uso em nosso laboratório e que permitem com razoável segurança identificar as várias enterobactérias que podem ser encontradas nas fezes. Nêles estão incluídas provas acessórias necessárias para diferenciação de outras enterobactérias e que também são de utilidade na identificação das salmonelas.

#### IV — IDENTIFICAÇÃO SOROLÓGICA

É baseada essencialmente na análise dos antígenos que compõem a bactéria. Como já foi dito, existem aproximadamente mil soro-tipos de salmonelas, o que torna difícil, a não ser para os chamados "Centros de Salmonelas", reconhecer todos os soro-tipos. Por outro lado, inquéritos feitos em vários países mostraram que 98% das infecções por salmonelas são devidas a um reduzido número de soro-tipos, o que torna possível a qualquer laboratório medianamente equipado realizar sua identificação.

A identificação propriamente dita pode ser dividida em duas etapas: 1.<sup>a</sup>) em que são usados soros somáticos e flagelares polivalentes, onde estão presentes aglutininas para a maioria dos grupos de salmonelas; 2.<sup>a</sup>) em que são empregados soros somáticos e flagelares dos quais foram retiradas, por absorção ou diluição, todas as aglutininas de grupo, tornando-os tipo-específicos.

A identificação é feita mediante provas de aglutinação em placa de vidro, quadriculada, que é colocada sobre uma caixa iluminada, tipo Huddleson, em cuja superfície se deposita uma gota de soro aglutinante e

QUADRO XIV

Enterobactérias	N.º de cepas	Dulcitol		Malonato		O.N.P.G.		Soro-aglutinação	
		Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.
<i>Salmonella</i>	40	40	0	0	40	0	40	40	0
<i>Arizona</i>	39	0	39	33	6	8	31	6	33
<i>Citrobacter</i>	45	45	0	0	45	45	0	0	45

QUADRO XV

	Uréia	H <sub>2</sub> S	Indol	Citrato	V.M.	V.P.	Gela- lina	Manita (movimen- to)	Grupo	Beta-galacto- sidase	Dulcitol	Malonato
Ácido e gás na base. Produção de H <sub>2</sub> S.	-	+	-	±	+	-	-	+	Salmonella	-	+	-
	-	+	+	±	+	-	+	+	Arizona	±	-	+
	-	+	-	±	+	-	-	+	Citrobacter	+	±	-
Ácido na base. Apice alcalino.	-	-	±	-	+	-	-	-	Shigella			
	-	-	+	-	+	-	-	-	Alkalescens-Dispar			
	-	-	+	+	+	-	-	+	Providencia			
	-	- ou + 48h							Salmonella typhi			
Ácido e gás na base. Apice alcalino.	-	-	-	-	+	-	-	+	Salmonella			
	-	-	-	-	+	-	-	-	Shigella — B <sub>6</sub>			
	-	-	+	+	+	-	-	+	Providencia			
Ácido e gás na base. Ácido no ápice.	-	-	+	-	+	-	-	+	E. coli			
	-	-	-	+	-	+	-	-	Klebsiella			
	-	-	-	+	-	+	(+)	+	Cloaca			
Apice alcalino. Base alcalina	+	±	+	±	+	-	±	+	Proteus			
Apice alcalino. Base não altera				+				+	Alcaligenes			

+ positivo;  
- negativo;  
(+) positivo tardio;

uma gota de suspensão da bactéria em solução fisiológica. Quando da verificação das aglutininas flagelares, é preferível utilizar bactérias cultivadas em meio líquido; usando-se meios de ágar comum, raspar a cultura junto à água de condensação. A reação em geral se processa dentro de um minuto principalmente se agitarmos a placa para melhor contacto.

#### PREPARO DOS SOROS

Para o preparo dos soros polivalentes somáticos e flagelares, seleciona-se uma série de salmonelas que abranja a totalidade dos antígenos somáticos e flagelares, o que é fácil, desde que se tenha à mão a tabela de Kauffmann-White (KAUFFMANN<sup>20</sup>, 1966); EDWARDS & EWING<sup>18</sup>, 1955; HORMAECHE & PELEFFO<sup>26</sup>, 1959.

Em geral são necessários 32 tipos de salmonelas. Transplanta-se cada uma das culturas para tubos de ágar inclinado e de caldo comum, os quais são incubados durante 24 horas a 37°C. É indispensável que as culturas utilizadas estejam lisas.

*Antígeno flagelar:* Mistura-se em um balão com pérolas de vidro o cultivo obtido em todos os tubos de caldo comum; agita-se por alguns minutos; centrifuga-se até que o sobrenadante fique completamente límpido ou ligeiramente opalescente. Decanta-se esse líquido (que é o antígeno a ser usado na preparação do soro flagelar polivalente) e se adiciona 0,5% de formol, verificando-se a esterilidade no dia imediato.

*Antígeno somático:* Colocam-se 2 cm<sup>3</sup> de solução fisiológica estéril em cada um dos tubos de ágar comum semeados e suspende-se todo o cultivo. Retiram-se as emulsões dos vários tubos e misturam-se num frasco, autoclavando por duas horas em vapor fluente. No momento de usar, dilui-se em solução fisiológica estéril até a opacidade do tubo 6 da escala de MacFarland.

#### ESQUEMA DAS INOCULAÇÕES

*Soro somático:* fazer inoculações na veia marginal da orelha de um coelho com pêso mínimo de 2 kg, começando com 0,5 cm<sup>3</sup> e aumentando 0,2 cm<sup>3</sup> em dias alternados até o total de 5 injeções.

*Soro flagelar:* inocular na veia marginal do coelho em dias alternados, começando

com 0,6 cm<sup>3</sup> e aumentando 0,1 cm<sup>3</sup> nas injeções seguintes, até o total de 1,0 cm<sup>3</sup>.

Depois de 5 dias da última inoculação, fazer sangria de prova e verificar se o soro contém aglutininas para tôdas as amostras utilizadas em sua preparação. Caso não dê reação positiva para algumas delas, estas deverão ser inoculadas novamente no animal; em geral duas inoculações são suficientes. A prática de juntar ao soro polivalente aquêle que falta não é boa, porque algumas vezes provoca uma diluição excessiva. Estarão em condições de serem usados os soros que aglutinarem tôdas as amostras bacterianas que entraram na sua preparação.

Na verificação dos soros flagelares, é preferível usar como antígeno culturas em caldo comum, empregando-se o depósito do fundo do tubo. Os soros flagelares assim preparados reagem também como o antígeno somático, daí ser necessário absorvê-los com culturas autoclavadas ou verificar se diluições maiores são suficientes para não mais produzir aglutinação somática, conservando a aglutinação flagelar.

Para absorver qualquer soro, quase sempre são necessárias grandes quantidades de germes. Estes são semeados em ágar comum distribuído em fôrmas de alumínio com 25 cm de diâmetro. O crescimento é removido da superfície do ágar com espátula e colocado diretamente no soro a ser absorvido, deixando em contacto por 1 hora em banho-maria a 37°C e até o dia seguinte na geladeira, para depois centrifugar. Tal procedimento tem a vantagem de não diluir o soro. É difícil prever a quantidade de germes que vão ser consumidos na absorção e o método ainda é por tentativa e erro.

Quando a cultura reage com os soros polivalentes, a etapa seguinte é determinar sua composição antigênica somática com os soros do grupo "O". De acôrdo com o que foi dito anteriormente sobre a frequência dos soro-tipos nas infecções humanas, é quase sempre suficiente utilizar os grupos somáticos seguintes:

Antígenos somáticos	Grupo somático	Bactéria utilizada
2	Grupo A	<i>S. paratyphi A</i>
4 — 5	Grupo B	<i>S. typhimurium</i>
7	Grupo C <sub>1</sub>	<i>S. oranienburg</i>
8	Grupo C <sub>2</sub>	<i>S. newport</i>
9	Grupo D	<i>S. gallinarum</i>
10	Grupo E <sub>1</sub>	<i>S. anatum</i>
15	Grupo E <sub>2</sub>	<i>S. newington</i>
1 — 3 — 19	Grupo E <sub>4</sub>	<i>S. senftenberg</i>

A preparação dos soros somáticos grupo-específicos, obedece às mesmas regras seguidas para os soros polivalentes somáticos, empregando-se aqui somente uma amostra para cada grupo ou subgrupo.

Prontos os soros, verifica-se em lâmina a diluição máxima que é capaz de aglutinar rapidamente o antígeno correspondente; este será o título do soro. Conhecido o título, verifica-se se aglutina outras cêpas que possuem o mesmo antígeno, assim como as representativas de outros grupos. Não havendo reações cruzadas para outros grupos e aglutinando várias cêpas do seu grupo, está pronto para ser usado.

Havendo reações cruzadas com outros grupos, é necessário promover a retirada dessas aglutininas, o que se consegue absorvendo esse soro com aquela bactéria que aglutina inespecificamente. Isto é feito com a técnica descrita para os soros polivalentes, deixando em contacto o soro e a suspensão bacteriana por 1 hora em banho-maria a 37°C e até o dia seguinte na geladeira. A mistura soro-bactérias é centrifugada em alta rotação até que se obtenha um sobrenadante límpido. Dilui-se ao título anterior e verifica-se se continua aglutinando com as amostras desejadas e sem reações inespecíficas.

É evidente que para se obterem fatores específicos de subgrupos, sempre os soros têm que ser absorvidos. No grupo C, para preparar C<sub>1</sub> é preciso absorver com uma salmonela do subgrupo C<sub>2</sub>. Para C<sub>2</sub>, o processo é inverso. Para o grupo E com seus três subgrupos, o processo é o mesmo. Como não é fácil preparar um soro 19 característico do grupo E<sub>4</sub> (1 — 3 — 19), é preferível usar um soro 3-19, do qual se retira a fração 1 por absorção pela *S. paratyphi* A. Tendo-se soros dos grupos E<sub>1</sub> e E<sub>2</sub>, onde se removeu a fração 3, é fácil identificar o grupo E<sub>4</sub>, que dará uma reação positiva com o soro 3-19, mas não com os soros 10 e 15.

Identificado o grupo somático, recorremos à tabela de Kauffmann-White para verificar quais os antígenos flagelares que podem ocorrer em combinação com o grupo somático. Frequentemente é dispensável a pesquisa de todos os antígenos flagelares, porquanto apenas poucos tipos de salmonellas são encontrados comumente. Por exemplo: uma salmonela do grupo somático B será provavelmente *S. typhimurium*: daí verificar-se pri-

meiro os antígenos flagelares próprios desse tipo, antes de recorrer aos soros que indicam tipos mais raros.

As aglutinações flagelares também são verificadas em lâmina. Como antígenos usa-se cultura em caldo (depósito), ou de ágar úmido. Os soros aglutinantes são preparados do mesmo modo que o soro polivalente flagelar, usando-se cultura em que previamente o antígeno flagelar desejado é estimulado por passagens sucessivas em meio semi-sólido.

Sempre que possível, empregam-se raças monofásicas. Quando haja necessidade de usar uma amostra difásica, deve-se bloquear a fase que se deseja suprimir juntando, ao ágar semi-sólido, 0,5 cm<sup>3</sup> de um soro aglutinante diluído a 1/5 que contenha o anticorpo flagelar correspondente ao antígeno que se deseja bloquear.

Com uma cêpa difásica semeada por picada na parte superior de um tubo de ágar semi-sólido ao qual se juntou o soro bloqueante, a fase correspondente ao soro será imobilizada, enquanto a outra se difunde pelo ágar semi-sólido. Com a chama do bico de Bunsen, funde-se a parte superior do ágar e se obtém no fundo a fase desejada. Como nem sempre é fácil fundir a parte superior do ágar, resolvemos empregar na indução das fases o método de CRAIGIE<sup>14</sup>, (1931) alterando a composição do ágar semi-sólido, ao qual adicionamos 0,5 g por mil de glicose e um indicador de azul de bromotimol e o soro aglutinante desejado. Com essa modificação, a motilidade do germe pode ser acompanhada pela viragem do meio de cultura. Considera-se cultura satisfatória quando capaz de dar a volta completa no tubo de Craigie em 24 horas.

A fase induzida é transplantada para um tubo de caldo comum e incubada 18 horas a 37°C e, em seguida, tratada do mesmo modo descrito na preparação dos soros polivalentes flagelares. As mesmas técnicas de indução de fase são usadas para tipagem dos soros-tipos.

Na obtenção de soros flagelares puros, quando se usa uma raça monofásica, muitas vezes não é necessário absorver; basta verificar qual a diluição em que não há mais aglutinação somática. Se não for possível eliminá-la por diluição, esse soro deverá ser absorvido com a mesma raça usada na sua preparação, previamente aquecida a 100°C

por 1 hora. Outra cêpa com a mesma composição somática, mas possuindo flagelados diferentes, também pode ser usada e, nesse caso, não é necessário aquecimento prévio.

Usando uma amostra difásica, mesmo com a fase induzida, é preciso também remover as que correspondem à fase bloqueada, muitas vezes presentes.

Nestes casos, as culturas usadas para absorver devem ter a mesma composição somática e os mesmos antígenos flagelares que se deseja suprimir. Por exemplo: na preparação do soro flagelar *i* utiliza-se *S. typhimurium* com a fase 1-2 bloqueada; êste soro deverá ser absorvido com *S. paratyphi* B que tem a mesma composição somática e flagelar de *S. typhimurium*, exceção dos antígenos da fase 1.

Quando o antígeno H se compõe de frações diferentes, como por exemplo: eh-enx, lv-gm-gp, etc., é necessário não só remover as frações somáticas como também parte do antígeno flagelar. Assim, para preparar a fração *p* (*S. dublin* 1-9-12; gp), absorve-se com *S. enteritides* 1-9-12; gm; nesses casos, quase sempre é necessário empregar uma maior quantidade de germes na absorção.

As amostras usualmente utilizadas para o preparo dos soros flagelares são:

<i>S. paratyphi</i> A	a
<i>S. paratyphi</i> B (monofásica)	b
<i>S. cholerae-suis</i> (fase 1)	c
<i>S. typhi</i>	d
<i>S. newport</i> (fase 1)	eh
<i>S. derby</i>	f
<i>S. enteritides</i>	g
<i>S. newport</i>	h
<i>S. typhimurium</i>	i
<i>S. london</i>	lv
<i>S. oranienburg</i>	mt
<i>S. dublin</i>	p
<i>S. paratyphi</i> B (fase 2)	2
<i>S. thompson</i> (fase 2)	5
<i>S. anatum</i> (fase 2)	6
<i>S. bredeney</i> (fase 2)	7

## V — SALMONELOSES

As manifestações clínicas da salmonelose podem variar desde o portador assintomático até as septicemias fulminantes. Os quadros clínicos observados em geral se apresentam sob quatro modalidades: 1) gastroenterite; 2) bacteremia ou septicemia com ou sem localização extra-intestinal; 3) forma tífica ou febre entérica; 4) convalescente ou portador assintomático.

### 1. SALMONELOSES NA PRIMEIRA INFÂNCIA

#### a) *Infecções intestinais agudas (Gastroenterite)*

O desconhecimento relativo dos agentes responsáveis pelas diarreias agudas da primeira infância torna difícil qualquer medida profilática ou terapêutica e impossível qualquer estudo epidemiológico referente à salmonelose, incriminada por altas cifras de mortalidade nos países da América do Sul. Segundo MORAES<sup>28</sup> (1960) ocorrem anualmente no Brasil de 110 000 a 140 000 mortes de infantes, sendo que no município de São Paulo no quinquênio 1955-1959 ocorreram cerca de 14 000, por doenças diarreicas.

Com o fito de estabelecer em São Paulo a frequência dos mais importantes agentes etiológicos da diarreia da primeira infância, realizamos inquéritos em anos diferentes, nos quais a idade e a síndrome nem sempre foram as mesmas. Os dados referentes a êsses vários inquéritos estão condensados nos quadros XVI e XVII.

Para o mesmo grupo etário com a mesma síndrome clínica, dos 713 casos examinados, em 9,8% foram encontrados salmonelas.

Comparando as proporções dos vários grupos entre si, verifica-se haver uma diferença significativa apenas entre o grupo de 1945 e o de 1964, usando o método da prova bicaudal, nível de significância de 5% (valor crítico = 1,96), com correção para continuidade. Variando a síndrome clínica ou a idade dos pacientes, a incidência das salmonelas tornou-se muito baixa (quadro XVII).

QUADRO XVI

Frequência de enterobactérias reconhecidamente patogênicas

	Anos			
	1945	1956	1957	1964
Idade 1 mês até	5 anos	5 anos	5 anos	5 anos
N.º de casos	200	46	97	370
Síndrome clínica	aguda	aguda	aguda	aguda
<i>Salmonella sp.</i>	15%	15%	7%	5%
<i>Shigella sp.</i>	15%	15%	11%	10%
<i>E. coli G.E.I.</i>	—	19%	22%	23%
Negativos	70%	53%	60%	62%

QUADRO XVII

Frequência de enterobactérias reconhecidamente patogênicas

	Anos		
	1951	1954	1956
N.º de casos	300	92	307
Idade	até 5 anos	até 1 mês	até 1 mês
Síndrome clínica	Doença mitigada	Doença aguda	Doença aguda
<i>Salmonella sp.</i>	2%	1%	0,3%
<i>Shigella sp.</i>	7%	0%	0,0%
<i>E. coli G.E.I.</i>	—	17%	50,0%
Negativos	91%	82%	49,7%

Os sôro-tipos encontrados foram em número de 10, predominando *S. newport*. Os que tiveram distribuição mais uniforme nos diferentes anos foram: *S. typhimurium* e *S. derby*, como se vê no quadro XVIII.

Além da forma endêmica, foi-nos dado surpreender um surto epidêmico de gastroenterite ocorrido em um dos nosocômios da Capital. Graças à facilidade de se fazerem exames repetidos das crianças internadas, foi logo surpreendido após ter atingido cinco crianças. A fonte de contágio foi a água

usada no banho devido à prática de lavar várias crianças ao mesmo tempo na mesma banheira; o sôro-tipo responsável foi *S. derby*.

A incidência por nós assinalada é semelhante à de PELLUFFO *et alii*<sup>39</sup> (1946) em inquérito também realizado em São Paulo. Já os resultados de COSTA & BROOKING<sup>12</sup> o de Janeiro de MAROJA & LOWERY<sup>37</sup> (1956) em Santarém do Pará diferem não só quanto à frequência do germe como dos sôro-tipos encontrados.

QUADRO XVIII

Sôro-tipos encontrados

Sôro-tipo	A n o s					Total	%
	1945	1951	1956	1957	1964		
<i>S. newport</i>	15	2	1	1	2	21	30,0
<i>S. typhimurium</i>	5	2	2	1	2	12	17,1
<i>S. anatum</i>	3	1	1	—	—	5	7,1
<i>S. paratyphi B</i>	3	—	—	—	—	3	4,2
<i>S. derby</i>	2	1	2	2	6	13	18,5
<i>S. butantan</i>	—	—	—	1	1	2	2,7
<i>S. oranienburg</i>	—	—	—	1	1	2	2,7
<i>S. panama</i>	—	—	—	—	4	4	5,4
<i>S. dublin</i>	—	—	—	—	2	2	2,7
<i>S. montevideo</i>	—	—	1	—	1	2	2,7
<i>Salmonella sp.</i>	3	—	—	—	—	3	4,2
Total	31	6	7	6	19	70	

b) *Bacteremia ou septicemia com localização extra-intestinal*

Por uma combinação de fatores próprios da idade, são as crianças as vítimas prediletas das salmonelas pela facilidade de se exporem à infecção. Os quadros clínicos que determinam passam muitas vezes despercebidos, principalmente quando não são precedidos de manifestações entéricas.

Em geral, sobrevêm como complicação de uma enterite, mas podem ser determinados por penetração direta do germe na corrente circulatória através da faringe (HORMAECHÉ; PELUFFO & ALEPPO<sup>24</sup> 1936) ou por via pulmonar, como ficou bem demonstrado pelos trabalhos experimentais de CLEMMER *et alii*<sup>10</sup> (1960) e de DARLOW; BALE & CARTER<sup>16</sup> (1961) e clínicos de DATTA<sup>17</sup> (1960).

Admitindo-se, conforme já demonstrado por HORMAECHÉ; PELUFFO & ALEPPO<sup>24</sup> (1936), que a enterite por salmonelas nas crianças é freqüentemente precedida de rino-faringite (sendo possível em tais casos, isolar salmonelas do exsudato da garganta) e

que nem sempre as infecções desse tipo se localizam no intestino, não é de estranhar a possibilidade do aparecimento de um estado septicêmico que pode condicionar localizações as mais variadas da enterobactéria (BORNSTEIN<sup>8</sup> 1943; SAPHRA & WINTER<sup>27</sup> 1957).

No Brasil são raras as publicações referentes ao assunto. Em 1943 tivemos a oportunidade de descrever dois casos um relativo a uma panofthalmia com destruição do olho esquerdo de uma criança de 10 meses de idade que também apresentava quadro de broncopneumonia e outro referente a uma pleurite purulenta em criança de dois anos de idade. Do pus pleural foi isolada a *S. derby* e o sangue demonstrou aglutinação para essa bactéria até a diluição de 1/12 200<sup>55</sup>.

Entre as manifestações extra-intestinais consideradas freqüentes, merece ser assinalada a localização meníngea, principalmente em recém-nascidos e prematuros. A literatura refere número elevado de casos, seja isolados ou em surtos epidêmicos, quase sempre determinados por implantação do germe em comunidade hospitalar (VELLOT & MQTET<sup>63</sup>, 1950; BEENE; HANSEN & FULTON<sup>7</sup>

1951) conseqüentes à facilidade que têm êses microrganismos de se disseminarem quer por contacto direto, quer através de alimentos ou de objetos contaminados.

Entre nós, a ocorrência de casos isolados de meningite primária ou secundária por salmonelas tem sido assinalada (PESTANA & RUGAI<sup>41</sup>, 1940; BARACCHINI<sup>5</sup>, 1949) e os registros de exames do líquido cefalorraquidiano do Instituto "Adolfo Lutz" mostram que, apesar de não ser ocorrência freqüente, nos últimos 18 anos foram diagnosticados 28 casos isolados. De acôrdo com êstes dados, os tipos sorológicos responsáveis por estas infecções correspondem a: *S. typhimurium* (10), *S. newport* (5), *S. cholerae-suis* (3), *S. bredeney* (2), *S. anatum* (1), *S. oranienburg* (1), *S. dublin* (1), *S. butantan* (1), *S. panama* (1) e mais três casos cujos tipos não puderam ser identificados por se apresentar o germe rugoso.

Também nos foi dado observar (TAUNAY; BASTOS & MARTINS<sup>61</sup>, 1964) uma epidemia de meningite por *Salmonella* em crianças que, além de apresentar um número elevado de casos, mostra bem a importância do centro de tipagem de salmonelas para elucidar ocorrências dessa natureza. Em agosto de 1961 isolamos do líquido de um recém-nascido de 11 dias, internado no Hospital "Emílio Ribas", uma enterobactéria identificada como *S. grumpensis*. Três meses antes, havíamos recebido para identificação uma cultura correspondente a um caso de meningite purulenta do Hospital das Clínicas da U.S.P. e que também identificamos como *S. grumpensis*.

Nos meses seguintes e até maio de 1962 ocorreram mais 15 casos de meningite pelo mesmo agente etiológico que, à vista da informação de que procediam de zonas muito diferentes da cidade, fizeram com que acreditássemos estar face a uma epidemia diferente das até então descritas. Nas fichas clínicas do Hospital "Emílio Ribas" onde foram hospitalizadas as crianças, não constavam dados epidemiológicos esclarecedores, a não ser a residência dos seus responsáveis. Organizamos um pequeno inquérito epidemiológico onde procuramos verificar, entre outros dados, o local do nascimento, a assistência pré e pós-natal, bem como se a meningite fora precedida de disenteria ou se havia casos de disenteria entre os familiares.

Assim conseguimos localizar 13 familiares e, desde logo, verificamos um dado comum a todos os casos, isto é, o de que tôdas as crianças haviam nascido em uma mesma maternidade. Procurando a citada maternidade, verificamos que ali não havia referências a casos de infecção meningea e os quadros intestinais não eram em número maior do que habitualmente ocorre em hospitais dêsse tipo. Sugerido o exame das fezes de tôdas as enfermeiras e do pessoal atendente que de qualquer modo estivesse ligados aos cuidados dos recém-nascidos; de 32 pessoas foi isolada uma vez *S. newport*, não podendo portanto ser a responsável.

Indagando qual o tempo de permanência das parturientes na maternidade, fomos informados de que a média era de três dias, tempo insuficiente para que a infecção se manifestasse. Visitando os berçários, verificamos um número excessivo de leitos em cada berçário e a prática nada recomendável de atirar, no chão de ladrilhos, as fraldas servidas, o que nos levou a solicitar para exame o pó da varredura dos berçários, de onde conseguimos finalmente isolar a *S. grumpensis*.

Doze dias após a demonstração do germe na poeira da varredura, das fezes de um recém-nascido isolamos a mesma salmonela sem que fôsse possível encontrá-la novamente na varredura do chão. Uma semana depois, nôvo exame da varredura revelou que o germe ainda estava presente, apesar das medidas profiláticas que foram preconizadas. Nos dois meses seguintes não apareceram novos casos, quando êstes voltaram a ser diagnosticados em recém-nascidos de 8 dias nascidos na mesma maternidade. Nessa altura já havíamos constatado 24 casos com 22 óbitos.

Providências tomadas pela Secretaria de Saúde Pública e da Assistência Social determinaram o fechamento da maternidade e tôda ela foi desinfetada com formol até que os exames bacteriológicos das sementeiras do pó dos berçários não mais revelaram a presença de enterobactérias, o que ocorreu em 18 dias.

Do modo pelo qual o germe foi introduzido no berçário nada pudemos concluir. Sua presença, pelo menos por um período de 18 meses, deve ter sido conseqüência da má enfermagem e do acúmulo de crianças em espaço reduzido.

LEEDER<sup>33</sup> (1956), fazendo um estudo de epidemia semelhante a esta, mostrou que a criança, uma vez infectada, atua como foco de infecção por muito tempo. Se levarmos em conta o número de crianças nascidas na referida maternidade durante o período em que a bactéria esteve presente na poeira, podemos suspeitar de que grande número delas se tenha contaminado representando um foco importante de propagação da doença, e que foi confirmado pelo número elevado de casos (12) de gastroenterite por *S. grumpensis* que ocorreram em 1962 (quadro XXI pág. 64). Antes dessa data nunca havíamos isolado esse sôro-tipo e por informação pessoal do Prof. Ciro Peluffo, num dos autores que o identificou pela primeira vez num cobaio, diz não ter conhecimento de seu isolamento em casos humanos.

## 2. SALMONELOSES EM ADULTOS

### a) *Gastroenterite*

A quase totalidade das salmonelas isoladas em nosso laboratório corresponde a casos isolados de gastroenterite; em surtos epidêmicos nunca nos foi dado verificá-la e no Brasil só temos conhecimento de duas ocorrências dessa natureza.

SILVA; SILVA & GUIMARÃES<sup>51</sup> (1964) descreveram surto ocorrido em Salvador onde não foi possível isolar dos alimentos o agente responsável pela epidemia. Nos últimos meses do ano passado, foram-nos enviadas para identificação 26 cepas de salmonelas das quais 25 correspondiam a casos humanos de uma epidemia ocorrida entre os funcionários

de uma companhia de mineração do Amapá e uma isolada de uma lata de leite em pó usado na preparação de um sorvete. A sôro-tipagem de todas as cepas recebidas revelou tratar-se de uma *S. paratyphi C*, confirmando assim a origem da epidemia, uma vez que todos os doentes haviam consumido o referido sorvete.

O envio posterior de 15 latas de leite em pó da mesma procedência confirmou a presença de *S. paratyphi C* em uma das latas de onde o germe foi isolado em sementeira direta do leite sem necessidade de métodos de enriquecimento.

### b) *Bacteremia com localização extra-intestinal*

Em nossa casuística foi uma eventualidade pouco comum, apenas duas vezes isolamos em adultos *S. oranienburg* (empiema pleural e abscesso peri-renal respectivamente).

### c) *Forma tífica ou febre entérica*

A febre entérica não é freqüente em São Paulo, principalmente se compararmos sua frequência com a alta incidência da febre tifóide. Em cultivos de sangue realizados nestes últimos 4 anos, relativos a 5 937 casos suspeitos, obtivemos os resultados expressos no quadro XIX.

Já nos 8 anos anteriores, de 10 314 amostras de sangue foram isolados os seguintes sôro-tipos: *S. paratyphi A* (6), *S. choleraesuis* (5), *S. typhimurium* (1); *S. anatum* (1) e *S. newport* (1).

## QUADRO XIX

Incidência relativa da *S. typhi* e outras salmonelas

Ano	N.º exames	<i>S. typhi</i>	<i>S. paratyphi A</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. reading</i>	<i>S. choleraesuis</i>
1963	1 287	91	2	—	—	—
1964	874	77	—	—	—	—
1965	1 305	105	1	—	—	—
1966	2 471	158	2	1	1	1
Total	5 937	431	5	1	1	1

Em hemoculturas provenientes também da Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, GOMES & ARANTES<sup>20</sup> (1950), num período de 6 anos, isolaram do sangue 15 cepas de *S. cholerae-suis* var. Kuzendorf.

#### d) Portadores humanos

A fonte de infecção é quase sempre de hospedeiros (homem ou animal) que albergam o agente infeccioso e a transmissão se faz pela contaminação de alimentos ou pela ingestão de tecidos contaminados de animais doentes.

O conhecimento dos portadores é de máxima importância, uma vez que o controle das infecções por salmonelas se baseia na iluminação das fontes de infecção.

Infelizmente entre nós pouco se tem feito no sentido de levantar a incidência de portadores assintomáticos e os dados que possuímos são relativos a inquéritos com a finalidade de estabelecer a frequência de enterobactérias patogênicas entre a população normal ou a exames efetuados em portadores de enterocolopatias crônicas de variada etiologia.

Numa amostra abrangendo 1 552 habitantes de um município do interior do Estado, incluindo a população da zona urbana e rural, encontramos 6 casos positivos.

De 124 pacientes com enterocolopatias crônicas, em exames repetidos durante vários dias num período de 1 mês, foram isoladas 10 salmonelas, sendo que somente em um caso a mesma salmonela foi encontrada em 2 exames sucessivos, para uma média de 5 exames feitos em cada um dos pacientes.

Ainda em inquérito recente<sup>48</sup> (1966), com a finalidade de verificar portadores de bacilos tíficos nos contatos de convalescentes de febre tifóide, abrangendo um grupo de 165 pessoas num total de 990 exames, uma vez que foram repetidos 6 vezes, incluindo fezes e urina, foram isoladas 5 salmonelas, sendo importante notar que por 2 vezes foi isolada um *S. derby* da urina, sem estar presente nas fezes.

Ocasionalmente podem existir portadores de salmonelas nos quais o germe se localiza em outras cavidades naturais. Por um período de 15 anos temos isolado *S. typhimurium* da secreção nasal de um portador assintomático.

Os sôro-tipos encontrados nesses portadores foram os seguintes: *S. derby* (7), *S. anatum* (3), *S. newport* (4), *S. oranienburg* (1), *S. butantan* (2), *S. bredney* (1), *S. typhimurium* (1), *S. reading* (1), *Salmonella* sp. (1).

### 3. TIPOS DE SALMONELAS ISOLADAS NO MUNICÍPIO DE S. PAULO

Examinando as fezes de 35 705 indivíduos, na sua maioria adultos com e sem doença intestinal, num período de 17 anos, foram isoladas 720 salmonelas (quadro XX).

A frequência desses sôro-tipos variou nos diferentes anos de acordo com o quadro XXI

#### QUADRO XX

Sôro-tipos determinados em 17 anos

Sôro-tipo	N.º	%
<i>S. newport</i>	143	19,88
<i>S. anatum</i>	127	17,70
<i>S. typhimurium</i>	80	11,12
<i>S. derby</i>	72	10,01
<i>S. oranienburg</i>	5	7,64
<i>S. montivideo</i>	32	4,45
<i>S. paratyphi B</i>	30	4,17
<i>S. panama</i>	22	3,05
<i>S. butantan</i>	22	3,05
<i>S. bredney</i>	18	2,50
<i>S. grumpensis</i>	15	2,08
<i>S. senftenberg</i>	14	1,94
<i>S. reading</i>	13	1,80
<i>S. paratyphi A</i>	12	1,66
<i>S. london</i>	10	1,39
<i>S. give</i>	12	1,39
<i>S. paratyphi C</i>	4	0,55
<i>S. saint-paul</i>	2	0,27
<i>S. essen</i>	2	0,27
<i>S. rostock</i>	2	0,27
<i>S. enteritides</i>	2	0,27
<i>S. dublin</i>	2	0,27
<i>S. cholerae-suis</i>	1	0,13
<i>S. miami</i>	1	0,13
<i>S. havana</i>	1	0,13
<i>S. sendai</i>	1	0,13
<i>S. brandenburg</i>	1	0,13
<i>S. newington</i>	1	0,13
<i>S. newbrunswick</i>	1	0,13
<i>Salmonella</i> sp.	22	3,05

## QUADRO XXI

Frequência dos sôro-tipos nos diferentes anos

	1950	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	total
<i>S. newport</i>	9	4	7	10	13	16	12	9	7	6	8	9	8	9	8	6	2	143
<i>S. anatum</i>	6	2	3	6	13	11	10	15	9	7	12	8	5	8	8	2	2	127
<i>S. typhimurium</i>	5	3	3	6	6	9	4	2	7	3	—	3	3	7	9	5	5	80
<i>S. derby</i>	2	—	1	9	4	6	6	6	4	6	1	2	6	2	4	7	6	72
<i>S. oranienburg</i>	1	—	1	8	1	6	4	—	2	3	6	2	7	5	5	4	—	55
<i>S. montevideo</i>	1	—	2	2	2	2	3	10	2	—	—	2	2	2	2	—	—	32
<i>S. paratyphi B</i>	—	2	—	4	1	—	3	1	1	1	6	2	1	3	5	—	—	30
<i>S. butantan</i>	1	—	1	3	1	1	4	—	—	—	—	2	—	4	5	—	—	22
<i>S. panama</i>	—	—	—	—	—	1	—	1	—	2	2	3	1	5	4	2	1	22
<i>S. bredney</i>	—	1	—	—	4	2	—	1	—	—	2	3	1	—	—	3	1	18
<i>S. grumpensis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12	1	1	1	—	15
<i>S. senftenberg</i>	1	—	—	1	4	2	—	1	2	—	1	—	1	1	—	—	—	14
<i>S. reading</i>	—	—	—	—	—	3	1	1	1	—	—	—	—	—	—	3	4	13
<i>S. paratyphi A</i>	—	1	—	2	—	—	—	2	—	2	—	—	1	—	1	2	1	12
<i>S. london</i>	1	2	3	2	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	10
<i>S. give</i>	1	—	—	1	—	3	2	—	—	—	1	2	—	2	—	—	—	12
<i>S. paratyphi C</i>	—	—	—	3	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4
<i>S. saint-paul</i>	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	1	—	3
<i>S. essen</i>	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
<i>S. rostock</i>	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
<i>S. enteritides</i>	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
<i>S. dublin</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	2
<i>S. cholerae-suis</i>	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
<i>S. miami</i>	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
<i>S. havana</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
<i>S. sendai</i>	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
<i>S. brandenburg</i>	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
<i>S. newington</i>	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
<i>S. newbrunswick</i>	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
<i>Salmonella sp.</i>	2	3	3	5	4	—	—	—	—	—	—	2	1	1	—	—	—	21
Total	31	18	24	64	57	65	51	54	37	31	39	40	49	50	52	36	22	720

TAUNAY, A. E. — Diagnóstico bacteriológico das salmonelas de origem animal, sua importância e frequência no município de S. Paulo. Rev. Inst. Adolfo Lutz 28:43-69, 1968.

Gráfico I

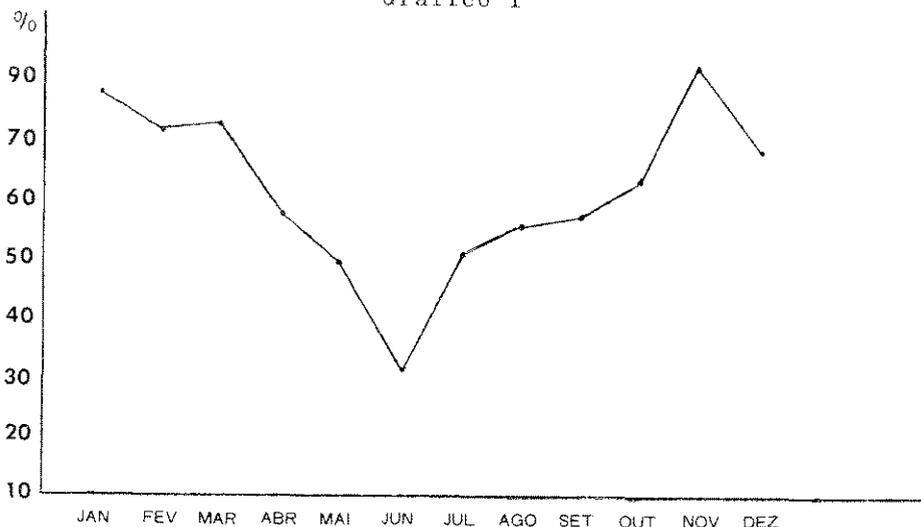
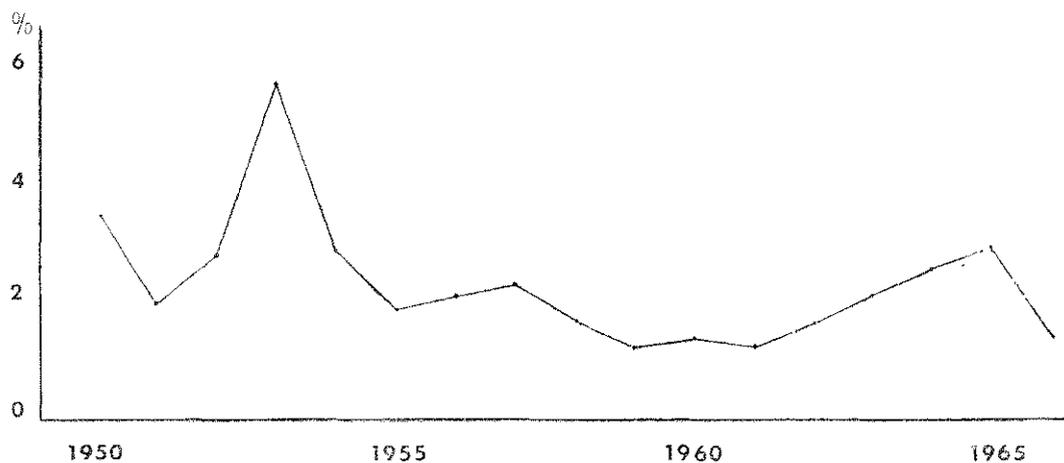


Gráfico II



O gráfico I mostra a sua distribuição nos diferentes meses e o gráfico II, nos vários anos.

De 1945 a 1966 foram identificadas em nosso laboratório 1 825 salmonelas provenientes de casos humanos, na sua maioria isoladas das fezes, algumas do sangue, líquido céfalorraquidiano e de supurações diversas. Provinham na quase totalidade de material recebido para exame na Secção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz e, em menor porcentagem, de culturas vindas para identificação. No quadro XXII estão agrupadas, segundo os grupos do esquema de Kauffmann-White.

O exame do quadro XXII confirma o que dissemos anteriormente sobre a possibilidade

de identificar a maioria das salmonelas isoladas do homem com um número reduzido de soros diagnósticos, uma vez que quase todas se enquadram dentro de poucos grupos sorológicos.

#### 4. FONTES DE INFECÇÃO HUMANA

Sendo os animais o grande reservatório de salmonelas, o levantamento do grau de infestação tem interesse epidemiológico. Vários autores que se ocuparam do assunto em São Paulo encontraram salmonelas em animais (D'APICE<sup>15</sup> 1943, PESTANA & RUGAI<sup>42</sup> 1943, PENHA & ESQUIBEL<sup>40</sup> 1945) ou em carnes e seus derivados (ASSUNÇÃO<sup>4</sup> 1946, PESTANA & RUGAI<sup>48</sup>, 1947.

QUADRO XXII

Amostras identificadas em nosso laboratório

GRUPO A	N.º	%	GRUPO D	N.º	%
<i>S. paratyphi</i> A	34	1,83	<i>S. panama</i>	74	3,38
GRUPO B			<i>S. rostock</i>	4	0,20
<i>S. paratyphi</i> B	60	3,23	<i>S. dublin</i>	23	1,23
<i>S. typhimurium</i>	247	13,30	<i>S. sendai</i>	2	0,10
<i>S. derby</i>	168	9,05	<i>S. miami</i>	1	0,05
<i>S. reading</i>	33	1,77	<i>S. enteritides</i>	1	0,05
<i>S. bredney</i>	48	2,58	<i>S. mendoza</i>	1	0,05
<i>S. abartus-equi</i>	1	0,05	GRUPO E		
<i>S. brandenburg</i>	3	0,16	<i>S. anatum</i>	234	12,60
<i>S. essen</i>	2	0,10	<i>S. give</i>	45	2,42
<i>S. californica</i>	1	0,05	<i>S. butantan</i>	51	2,47
GRUPO C			<i>S. london</i>	14	0,75
<i>S. newport</i>	313	16,86	<i>S. senftenberg</i>	20	1,07
<i>S. oranienburg</i>	94	5,06	<i>S. newington</i>	1	0,05
<i>S. paratyphi</i> C	23	1,23	<i>S. grumpensis</i>	39	2,10
<i>S. montevideo</i>	46	2,46	GRUPO I		
<i>S. cholera-suis</i>	39	2,10	<i>S. gaminara</i>	1	0,05
<i>S. bonariensis</i>	3	0,16	GRUPO L		
<i>S. typhi-suis</i>	1	0,05	<i>S. minnesota</i>	1	0,05
<i>S. oregon</i>	1	0,05	<i>Salmonella</i> sp.	226	12,17
<i>S. havana</i>	1	0,05			

Examinamos as fezes de 104 cães portadores de enterites agudas, dos quais por sete vezes encontramos *E. coli* G.E.I. dos grupos somáticos 111-86-55-128-26-25, tendo-se encontrado em um só uma salmonela (*S. anatum*). A incidência da salmonelose canina foi muito menor do que a observada em outros países; tal fato provavelmente decorre dos cães raramente serem alimentados com rações preparadas industrialmente, como é comum em outros países.

Sendo também as moscas incriminadas pela transmissão de doenças infecciosas, principalmente de infecções entéricas e não sendo ainda devidamente esclarecido o assunto, em 1957, procuramos verificar (COUTINHO; TAU-

NAY & LIMA<sup>19</sup>) que a importância da mosca como vetor de agentes patogênicos para o homem. De 185 lotes examinados, em 70,27% isolamos *E. coli*, sem nunca termos isolado uma enterobactéria patogênica; apesar de ser um dado sugestivo, não se lhe pode dar maior valor, em virtude de ter a *Musca domestica*, como criadouros preferenciais, excrementos de animais.

Apesar de contradizer a maioria dos autores que se preocuparam com o assunto, achamos razoável a opinião de HARDY & WATT<sup>22</sup> (1948), quando afirmam que a mosca doméstica só influi na transmissão de infecções entéricas quando associada a abundante exposição de dejetos humanos.

Na mesma ocasião investigamos (TAUNAY; LIMA & COUTINHO<sup>59</sup> 1957), a presença de enterobactérias patogênicas em baratas; em 114 espécimes (20 pools) não encontramos salmonelas.

De resto, são informações esporádicas obtidas através de culturas que nos são enviadas para identificação: *S. typhimurium* de epizootias em cobaios, perus e galinhas.

#### VI — RESUMO

Após comparar métodos bacteriológicos diferentes, foi possível estabelecer uma rotina de trabalho que permite isolar e identificar com segurança os vários tipos de salmonelas mais freqüentemente responsáveis pelas infecções humanas.

Os resultados obtidos são comparáveis com os de outros autores que se ocuparam do mesmo assunto, seja na mesma região ou em outros pontos do país. Foi possível verificar serem as salmonelas de origem animal responsáveis por 9,8% das infecções gastrintestinais agudas que ocorreram em 712 crianças cujas idades variam de um mês até cinco anos, inquérito êste realizado em anos diferentes. Pudemos verificar que para outros grupos etários (recém-nascidos) ou nas formas mitigadas da doença, sua frequência é baixa. Êsse fato não leva à conclusão de ser o recém-nascido mais resistente porque constatamos que, havendo condições propícias, o contágio se processa facilmente e não raro sob formas septicêmicas graves.

A verificação de elevado número de portadores humanos mostrou que na região deve haver condições para disseminação da doença. Entre êstes, foram encontrados portadores eliminando o germe pela urina, fato para o qual não encontramos explicação.

Cães, mosmas e baratas não representaram foco importante de infecção na região em estudo. A observação atingiu um período de 17 anos, tendo sido examinadas as fezes de 35 705 indivíduos na sua maioria adultos com e sem doença intestinal, tendo sido isolados 720 salmonelas pertencentes a 19 sôrotipos diferentes; dêstes, os 4 mais freqüentes foram *S. Newport* (19,88%) *S. Anatum* (17,70%) *S. Typhimurium* (11,12%) e *S. Derby* (10,01%).

#### VII — REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACHARD & BENSUAUDE — Soc. Méd. Hôp. Paris 13:679, 1896. Apud Salmonella Subcommittee of the Nomenclature Committee of the International Society For Microbiology<sup>46</sup>.
2. ANDREWES, F. W. — Studies in group-agglutination. I. The salmonella group and its antigenic structure. J. Path. Bact. 25:505-21, 1922.
3. ASSUMPÇÃO, L. — Considerações gerais sobre as salmoneloses humanas e a constituição antigênica das salmonelas. Boletim do Instituto de Higiene de São Paulo, n.º 75, 1942.
4. ASSUMPÇÃO, L. — Pesquisa de bactérias do gênero salmonella em carnes e seus derivados vendidos a retalho. Arq. Hig. Saúde Pública 11:475-86, 1946.
5. BARACCHINI, O. — Salmonella Typhimurium isolada de um caso de meningite cerebrospinal. Rev. Inst. Adolfo Lutz 9:92-4, 1949.
6. BARACCHINI, O. — Identificação de enterobactérias: meio triplice açúcar modificado. Hospital 49:537-9, 1956.
7. BEENE, M. C.; HANSEN, A. E. & FULTON, M. — Salmonella meningitis: recovery from meningitis due to Salmonella sp. (type Montevideo), with consideration of problem of salmonella meningitis. Amer. J. Dis. Child. 82:567-73, 1951.
8. BORNSTEIN, S. — The state of the salmonella problem. J. Immun. 46:439-96, 1943.
9. CALAZANS, S. C. & PESTANA, B. R. — Emprêgo do ácido rosólico no isolamento e identificação dos bacilos do grupo coli-typhico-dysenterico em meios solidos. Mem. Inst. Butantan 7:285-302, 1932.
10. CLEMMER, D. I.; HICHEY, J. L. S.; BRIDGES, J. F.; SCHLISSMANN, D. J. & SHAFFER, M. F. — Bacteriologic studies of experimental airborne salmonellosis in chickens. J. Infect. Dis. 106:197-222, 1960.
11. COSTA, G. A. & VERNIN, C. S. — Sobre u'a modificação do meio de Monteverde. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 53:105-114, 1955.
12. COSTA, G. A.; COSTA, A. & BROOKING, C. — As shigeloses e salmoneloses na etiologia das diarreias agudas da criança. Bol. Inst. Puericul. 14:79-98, 1957.

13. COUTINHO, J. O.; TAUNAY, A. E. & LIMA, L. P. C. — Importância da *Musca domestica* como vector de agentes patogênicos para o homem. Rev. Inst. Adolfo Lutz 17:5-23, 1957.
14. CRAIGIE, J. — Studies on the serological reaction of the flagella of *B. Typhosus*. J. Immun. 21:417-511, 1931.
15. D'APICE, M. — Observações sobre o aborto contagioso das águas em São Paulo. Arq. Inst. Biol. 14:235-242, 1943.
16. DARLOW, H. M.; BALE, W. R. & CARTER, G. B. — Infection of mice by the respiratory route with *Salmonella typhimurium*. J. Hyg. 59:303-8, 1961.
17. DATTA, N. — An outbreak of infection with *Salmonella typhimurium* in a general hospital. J. Hyg. 58:229-241, 1960.
18. EDWARDS, P. R. & EWING, W. H. — Identification of enterobacteriaceae. Minneapolis, Burgess publ., 1955.
19. FICHER & MÜLLER — Apud ASSUMPÇÃO, L. 3.
20. GOMES, L. S. & ARANTES, M. — Sobre quinze amostras de *Salmonella choleraesuis* var. Kunzendorf, isoladas de sangue humano. Cormogênese dessa variedade em certos meios de cultura. Rev. Inst. Adolfo Lutz 10:89-92, 1950.
21. HARDY, A. V. & WATT, J. — Newer procedures in laboratory diagnosis and therapy in control of bacillary dysentery. Amer. J. Public Health 34:503-9, 1944.
22. HARDY, A. V. & WATT, J. — Studies of the acute diarrheal diseases. XVIII. Epidemiology. Public Health Rep. 63:363-378, 1948.
23. HARDY, A. V. & GALTON, M. M. — Salmonellosis: the role of food processing plants in the dissemination of *Salmonella*. Amer. J. Trop. Med. 4:725-730, 1955.
24. HORMAECHE, E.; PELUFFO, C. A. & ALEIPO, P. — Nueva contribución al estudio etiologico de las "diarreas infantiles de verano"; las *Salmonellas* en las enterocolites de la infancia. Arch. Urug. Med. Cir. Especialid. 9:113-162, 1936.
25. HORMAECHE, E. & SURREACO, N. L. — Estudio sobre el valor de los metodos de aislamiento de *Salmonellas* y *Shigellas*. Arch. Urug. Med. Cir. Especialid. 18:485-503, 1941.
26. HORMAECHE, E. & PELUFFO, C. A. — Laboratory diagnosis of *Shigella* and *Salmonella* infections. Bull. WHO 21:247-77, 1959.
27. KAUFFMANN, . — Die Technik der Typhenbestimmung in der typhys-Paratyphysgruppe. Zbl. Bakt. (Abs. 1) 119:152-60, 1930.
28. KAUFFMANN, F. — Weitere Erfahrungen mit dem Kombinierten Anreicherungsverfahren für Salmonellabacillen. Zeit. Hyg. Infektr. 117:26-32, 1935.
29. KAUFFMANN, F. — Enterobacteriaceae. 2. ed. Copenhagen, Munksgaard, 1954.
30. KAUFFMANN, F. — The bacteriology of enterobacteriaceae: collected studies of the author and his coworkers. Copenhagen, Munksgaard, 1966.
31. KLIGLER, I. J. — Modifications of culture media used in the isolation and differentiation of typhoid, dysentery, and allied bacilli. J. Exp. Med. 28:319-22, 1918.
32. KRUNWIEDE, C. & KOHN, L. A. — A triple-sugar modification of the Russell double-sugar medium. J. Med. Research 37:225-7, 1917.
33. LEEDER, F. S. — An epidemic of *Salmonella panama* infections in infants. An. New York Acad. Sci. 66:54-60, 1956.
34. LE MINOR, L. — Le diagnostic de laboratoire des entérobactéries. 2. ed. St. Mandé, La Tourelle, 1962.
35. LIGNERES, J. — Rec. Méd. Vet. Paris 7:331, 1900. Apud SALMONELLA Subcommittee of the Nomenclature Committee of the International Society for Microbiology 66.
36. LOEFFLER — Zbl. Bakt. II, 129, 1892, Apud SALMONELLA Subcommittee of the Nomenclature Committee of the International Society for Microbiology 66.
37. MAROJA, R. C. & LOWEREY, W. D. — Estudos sobre diarreias agudas. II. Frequência de *Shigellas* e *Salmonellas* nos casos de diarreia aguda em Santarém, Pará. Rev. Serv. Espec. Saúde Pública 8:585-9, 1956.
38. MORAES, N. L. A. — Epidemiologia das diarreias infantis. Bol. Inst. Pueric. 17:200-4, 1960.
39. PELUFFO, C. A.; BIER, O.; AMARAL, J. P. & BIOCCA, E. — Estudos sobre as salmoneloses em São Paulo. I. Incidência dos diferentes tipos de diarreias infantis. Mem. Inst. Butantan 19:211-5, 1946.
40. PENHA, A. M. & ESQUIBEL, A. — Novas observações de salmonelose bovina em gado importado, submetido à premunição contra a "tristeza". Bol. Soc. Paulista Med. Vet. 7:73-86, 1945.

TAUNAY, A. E. — Diagnóstico bacteriológico das salmonelas de origem animal, sua importância e frequência no município de S. Paulo. Rev. Inst. Adolfo Lutz 28:43-69, 1968.

41. PESTANA, B. R. & RUGAI, E. — Salmonelas isoladas de líquido céfalo-raquidiano. An. Paulista Med. Cir. 39: 378, 1940.
42. PESTANA, B. R. & RUGAI, E. — O porco normal como portador de salmonelas. Rev. Inst. Adolfo Lutz 3:232-5, 1943.
43. PESTANA, B. R. & RUGAI, E. — Da presença de salmonelas nas carnes pré-preparadas. Rev. Inst. Adolfo Lutz 7: 5-7, 1947.
44. RUGAI, E. — Tríplice-açúcar modificado. Trabalho não publicado.
45. RUXS, A. C. — The isolation of typhoid, paratyphoid, and dysenteric bacteria from faeces and urine. A comparative study of some culture media. Brit. Med. J. 1:606-7, 1940.
46. SALMONELLA Subcommittee of the Nomenclature Committee of the International Society for Microbiology. The genus *Salmonella* Lignières, 1900. J. Hyg. 31: 333-50, 1934.
47. SAPHRA, I. & WINTER, J. W. — Clinical manifestations of salmonellosis in man: an evaluation of 779 human infections identified at the New York Salmonella Center. New Eng. J. Med. 256:1128-34, 1957.
48. SCHMID, A. W. — Contribuição para o conhecimento da epidemiologia da febre tifoide através da pesquisa de portadores. Tese apresentada à Faculdade de Higiene e Saúde Pública de São Paulo, BR, para concorrer à Cátedra de Epidemiologia. São Paulo, 1966.
49. SCHOTTMÜLLER — Apud ASSUMPTÃO, L.ª.
50. SCHÜTZE, E. — The paratyphoid B. group. Lancet 1:93-7, 1920.
51. SILVA, G. R.; SILVA, I. & GUIMARAES, C. C. — An outbreak of food poisoning due to salmonella typhimurium in a general hospital. I. Epidemiological features. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo 6:258-67, 1964.
52. SINGER, J. — Culture of enterobacteriaceae. I. A practical medium containing urea, tryptone, lactose and indicators. Amer. J. Clin. Pathol. 20:880-3, 1950.
53. SINGER, J. — Culture of enterobacteriaceae. II. Use of urea triple-sugar agar. Amer. J. Clin. Pathol. 20:884-5, 1950.
54. SURRACO, N. L. & PEREYRA, V. R. — Nuevo medio de cultivo para el repicado de colonias en el aislamiento de salmonelas y shigelas. Arch. Urug. Med. Cir. Especialid. 21:518-32, 1942.
55. TAUNAY, A. E. & SILVA, M. B. — Salmonelose com localização extraintestinal. Rev. Inst. Adolfo Lutz 3:244-6, 1943.
56. TAUNAY, A. E.; CORRÊA, G. A. & FLEURY, C. T. — Meios de cultura para pesquisa de salmonelas intestinais. Rev. Inst. Adolfo Lutz 4:201-6, 1944.
57. TAUNAY, A. E. — Bacteriologia das shigeloses. Rev. Inst. Adolfo Lutz 11:49-102, 1951.
58. TAUNAY, A. E.; PONTES, J. F.; PRADO, E. & PEIXOTO, E. S. — Shigeloses: comparação de métodos de colheita das fezes no diagnóstico bacteriológico das enterocolites crônicas. Aglutininas e coproaglutininas na enterocolite crônica. Rev. Inst. Adolfo Lutz 16:37-61, 1956.
59. TAUNAY, A. E.; LIMA, L. P. C. & COU-TINHO, J. O. — Observações sobre a transmissão de agentes patogênicos para o homem por meio de baratas. Rev. Inst. Adolfo Lutz 17:25-32, 1957.
60. TAUNAY, A. E.; MARTINS, H.; TOPOROWSKI, J.; TOLEDO, L. A. & PEIXOTO, E. S. — Investigações laboratoriais sobre a enterite infantil por *E. coli* G.E.I. Rev. Inst. Adolfo Lutz 18:45-82, 1958.
61. TAUNAY, A. E.; BASTOS, C. O. & MARTINS, H. — Surto epidêmico de meningite por *Salmonella grumpensis*. Rev. Inst. Adolfo Lutz 24:45-9, 1964.
62. THOMAS, M. E. M. — Disadvantages of the rectal swab in diagnosis of diarrhoea. Brit. Med. J. 2:394-6, 1954.
63. VELLOTT, J. & MATET, Y. — Les meningites a *Salmonella*. Paris Med. 40:213-7, 1950.
64. WEIL, E. & FELIX, A. — Untersuchungen über das Wesen der Fleckfieber agglutination. Wien. Klin. Wschr. 30:1509-11, 1917.
65. WHITE, B. — The salmonella group. In Inglaterra Medical Research Council. A system of bacteriology in relation to medicine. London, H. M. Stationat., 1929. v. 4, p. 86-158.

Recebido para publicação em 14 de outubro de 1968.



## APENDICITE AGUDA PERFURATIVA POR INFESTAÇÃO DE *TRICHOCEPHALUS TRICHIURUS* (1)

### PERFORATIVE ACUTE APPENDICITIS WITH INFESTATION OF *TRICHOCEPHALUS TRICHIURUS*

JOSÉ CARLOS ARMINANTE (2)  
EVANDRO PIMENTA DE CAMPOS (2)

#### SUMMARY

A case of perforative acute appendicitis with a massive infestation of *Trichocephalus trichiurus* is presented.

It was demonstrated microscopically the fistulous way in the appendiccal wall permitting the entrance of the fecal matter from the appendix lumen as well as adult worms and eggs, into the abdominal cavity.

The absence of an inflammatory exudate of the suppurative type generally found in acute appendicitis was observed; the discrete inflammatory reaction and the dissociation of the tissues led to the idea of a lytic ferment produced by the worms.

It is possible that the presence of an infectious hepatitis, in the present case, diminishing the patient resistance, plays a role in making easy the appendix perforation.

#### INTRODUÇÃO.

As complicações pelas parasitoses humanas provocando graves danos ao organismo e mesmo a morte têm sido descritas em sua maioria em relação a *Ascaris lumbricoides*, destacando-se as obstruções e perfurações intestinais, as formações de abscessos no fígado acompanhados de colangio-hepatite crônica e a obstrução das vias biliares excretoras, mais raramente, em relação ao *Strongyloides stercoralis*, destacando-se a colite ulcerativa crônica<sup>1</sup>, conduzindo à caquexia e à morte. Em relação ao *Trichocephalus trichiurus* apenas tem sido referida a possibilidade de complicações, como perfurações sem, todavia, ter sido demonstrada ainda essa eventualidade; as complicações são raras, pois a tricurose, como acentua PESSÔA<sup>2</sup>, em geral não ocasiona acidentes patológicos sérios, que somente se verificam nos casos de infestação intensa, e em crianças. As referências sobre complicações graves são raras. Assim, em

1939, FAUST<sup>3</sup> assinala que muito tem sido escrito sobre a patogenicidade do tricocéfalo, mas poucos fatos são conhecidos sobre ele. Os sintomas clínicos apresentados pelos seus portadores são pobres; a cabeça do verme penetra nas camadas sub-mucosa e muscular; "é possível" que possa em raras ocasiões perfurar a parede intestinal e cair na cavidade abdominal. Se os vermes se alojam na luz do apêndice, ocluindo-a, podem provocar sintomas de apêndice aguda. O próprio Faust refere como complicação mais séria a presença de abscessos na sub-mucosa do cêcum e cólon ascendente, quando há invasão por estafilococos e estreptococos. Em 1945 ASH & SPITZ<sup>4</sup> reafirmam que as larvas e vermes adultos elaboram fermentos líticos lesando a mucosa e que as duas maiores complicações produzidas pelo tricocéfalo são a obstrução da luz do apêndice e a peritonite produzida pela penetração do verme

(1) Trabalho realizado na Diretoria de Patologia do Instituto Adolfo Lutz (Dr. Evandro Pimenta de Campos).

(2) Do Instituto Adolfo Lutz.

na parede intestinal. Em 1951, CRAIG & FAUST<sup>5</sup> assinalam que apesar de desconhecido o mecanismo exato pelo qual o tricocéfalo afeta o indivíduo parasitado, há dois importantes fatores que são o tóxico e o traumático. Se grande número de vermes atinge a fase adulta, eles podem obstruir a luz do apêndice e também produzir inflamações da mucosa do cécum, do próprio apêndice e do cólon ascendente. Não referem, porém, perfurações. Em 1952, BELDING<sup>6</sup> também assinala que o tricocéfalo com seu hábito de perfurar a mucosa intestinal pode facilitar a penetração de bactérias, advindo daí complicações diversas provocadas pelas mesmas, chamando a atenção para o fato de que na "América Tropical" esse helminto é considerado como responsável por apendicites e pelas chamadas peritonites tropicais idiopáticas.

Dessa maneira, não há uma comprovação documentada anatomopatologicamente de perfuração da parede intestinal e nem de apêndice aguda pelo *Trichocephalus trichiurus*, parecendo-nos ser esta a primeira comunicação bem documentada de apêndice aguda perfurada, em caso de infestação maciça por tricocéfalos.

#### REGISTRO DO CASO

##### Observação anatomoclínica

Trata-se de um paciente do sexo masculino, de 3 anos de idade, de cor branca, residente na capital de São Paulo, em local e em condições sanitárias bastante precárias, sem água potável, em promiscuidade, e em presença de cães e ratos. Os pais informam que 6 dias antes da internação manifestou-se icterícia com urina manchando a roupa, estado febril, sede intensa, pés inchados e aumento de volume do ventre; anteriormente, a criança havia vomitado vermes (*Ascaris*). Nos antecedentes, apenas há referência de ter sido feita vacina Sabin. Na internação, verificou-se temperatura de 37,5°C, pulso 100 p/m, mau estado geral, icterícia da pele e mucosas visíveis, abdômen distendido e sinais de ascite. Faleceu no dia seguinte ao da internação.

A necrópsia revelou indivíduo desnutrido, com icterícia generalizada, amidalite lacunar crônica, fígado diminuído de volume, de

cor castanho-pálida, revelando ao exame histológico um quadro de atrofia amarela subaguda; coração e pulmões, sem alterações importantes.

Os achados macroscópicos mais importantes foram os seguintes: cavidade abdominal cheia de um líquido seroso amarelado, havendo intensa congestão do peritônio; o estômago apresentava gastrorragia; presença de ancilostomídeos no intestino delgado; o intestino grosso, de parede bastante espessa, com a mucosa edemaciada e bastante congesta, mostrando numerosíssimos tricocéfalos em sua grande maioria firmemente aderindo à mucosa (Fig. 1).

Um exame com lupa mostrou os vermes adultos adentrados na mucosa intestinal através de suas duas extremidades (Fig. 2); compreende-se, por este fenômeno, que é possível a ação de substâncias líticas por eles secretadas ou excretadas, pois a extremidade distal também penetra na mucosa, podendo provocar solução de continuidade da parede intestinal e, daí, a perfuração.

O apêndice ileo-cecal macroscopicamente não apresentava alterações importantes, porém o exame histológico, em cortes seriados, mostrou os interessantes e originais achados seguintes: em determinado ponto verifica-se perfuração microscópica, caminho fistuloso da parede apendicular, que vai da mucosa à serosa e, junto a esta, na cavidade abdominal, um exsudato em meio ao qual se encontra verme e ovos de tricocéfalo (Fig. 3 e 4). Com um aumento maior, pode-se constatar que o caminho fistuloso dá passagem, da luz apendicular à cavidade abdominal, a numerosos ovos desse verme.

Fica assim demonstrada, histologicamente, a perfuração da parede apendicular por tricocéfalo. Chamamos a atenção para o fato de essa perfuração não apresentar um infiltrado do tipo supurativo, com presença de neutrófilos, notando-se apenas aumento dos leucócitos e algumas células histiocitárias.

#### DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Apesar de raras referências e notícias sobre fatos dando conta de complicações graves causadas por infestação maciça por *Trichocephalus trichiurus*, esta é a primeira vez em que se comprova histologicamente a per-

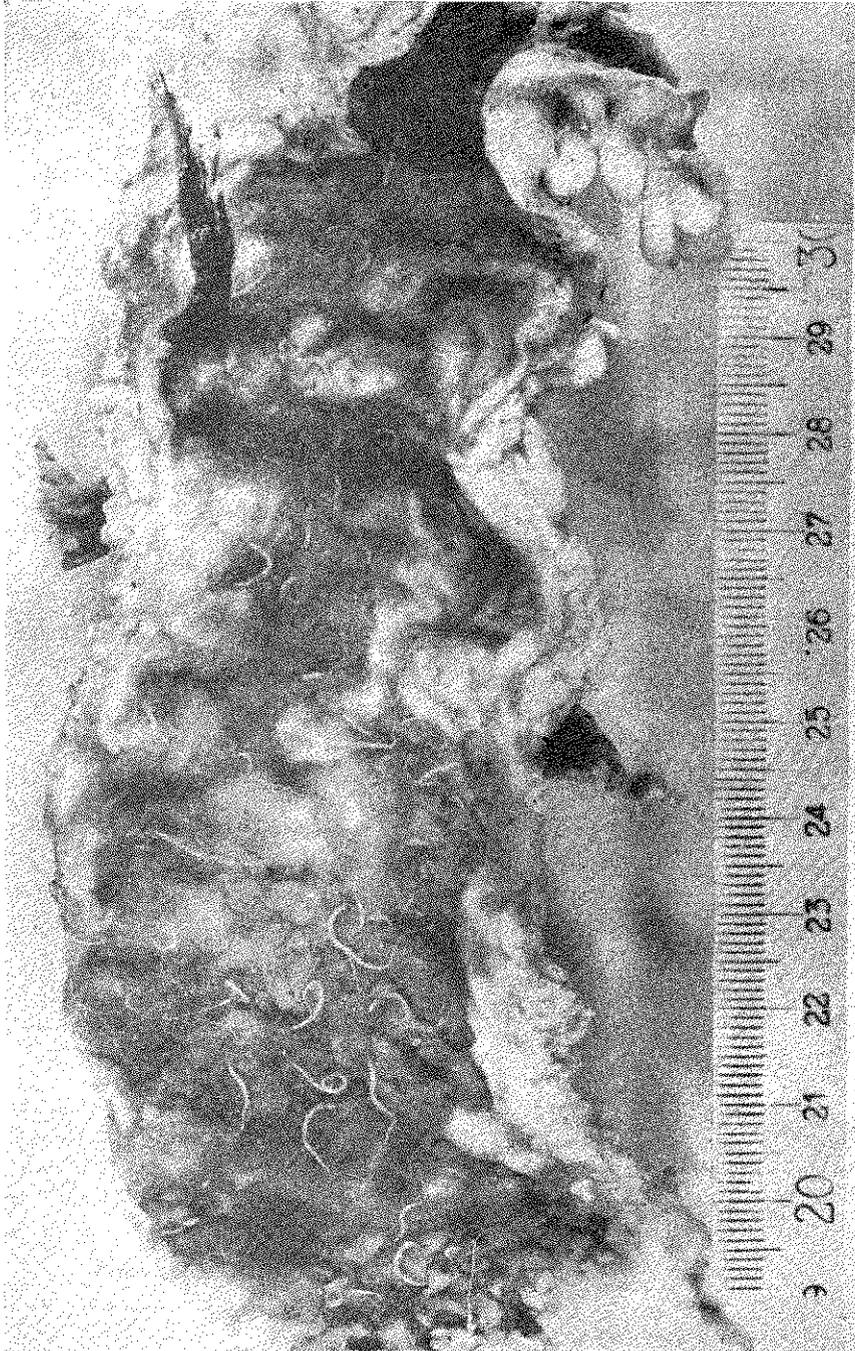


Fig. 1 — Segmento do intestino grosso, com espessamento da parede e edema da mucosa; numerosos tricocéfalos aderindo à mucosa.



Fig. 2 — Vermes adentrados na mucosa intestinal, alguns détes pelas suas duas extremidades. Detalhe da Fig. 1, com aumento.

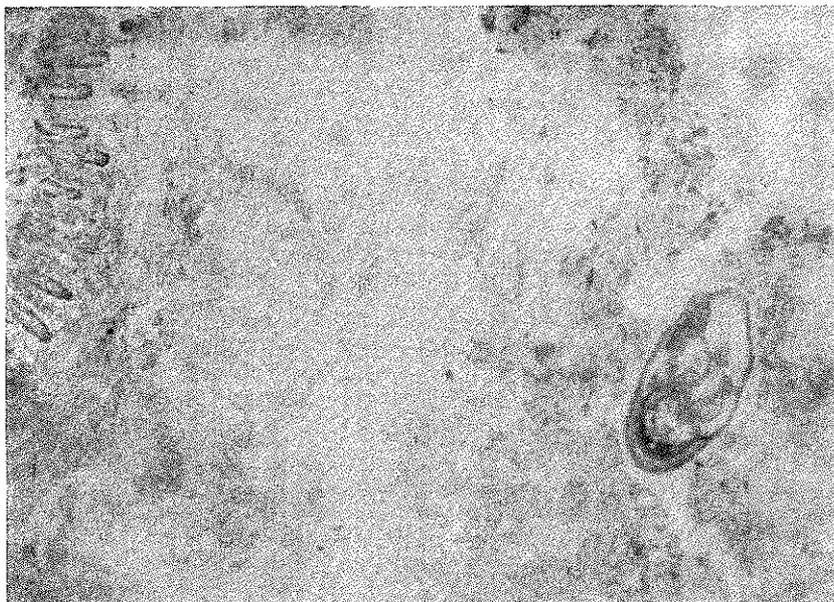


Fig. 3 — Corte da parede apendicular, com exsudato na cavidade abdominal, contendo verme. (H. E. Aumento fraco).

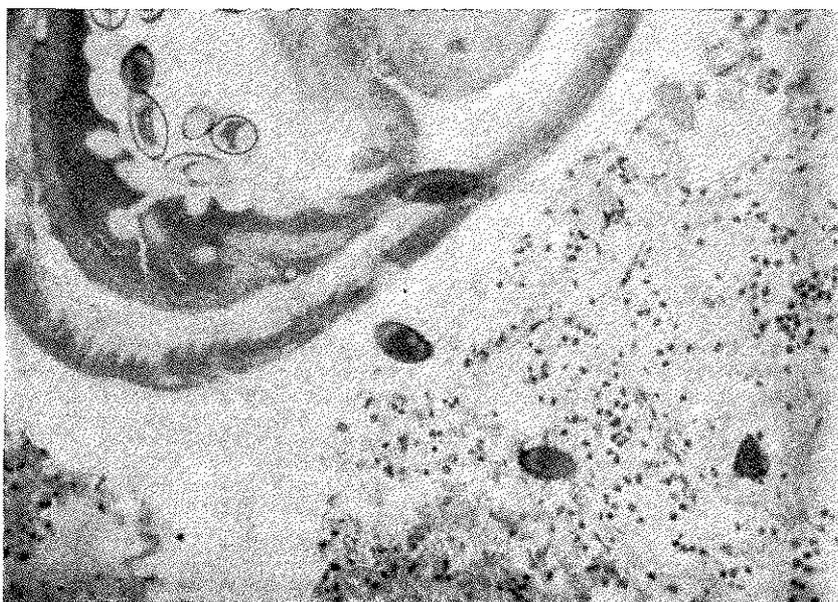


Fig. 4 — Detalhe da figura 3, focalizando ovos livres na cavidade abdominal e no interior do verme. 400 X.

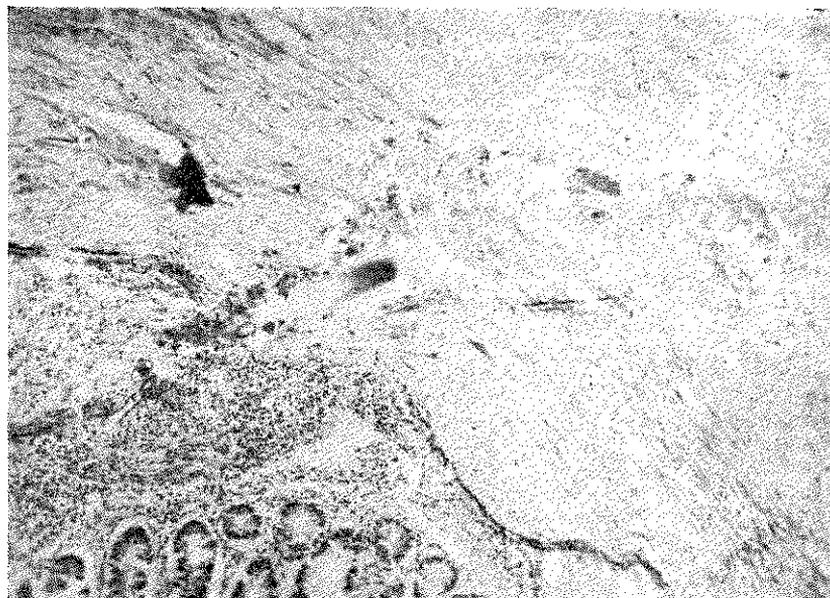


Fig. 5 — Secção da parede do apêndice, notando-se caminho fistuloso (solução de continuidade de tôdas as camadas), dando passagem a ovos de *trichocephalus*. (H. E. 160 X).

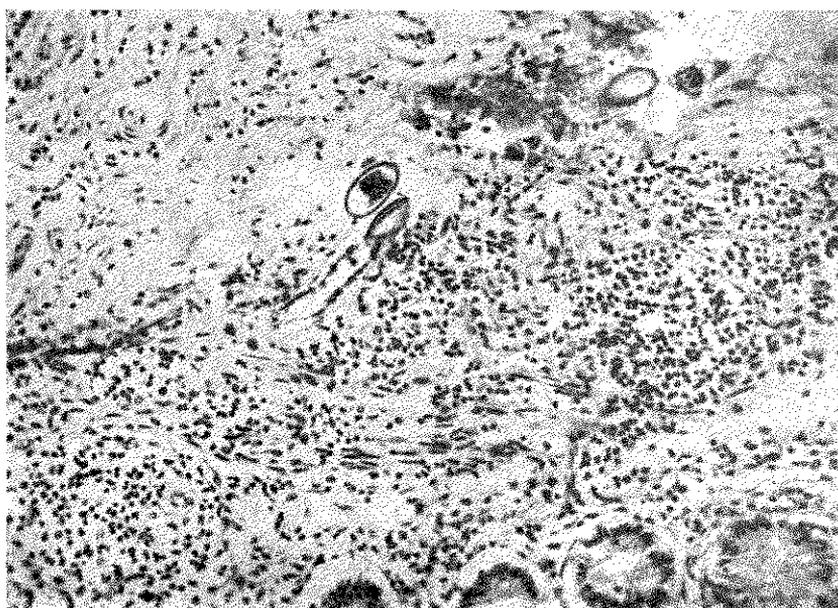


Fig. 6 — Detalhe da figura 5, focalizando o caminho fistuloso e ovos de parasitos. Ausência de piocitos. (H. E. 400 X).

furação microscópica da parede do apêndice ilio-cecal; demonstra-se extravasamento para a cavidade abdominal no conteúdo da luz apendicular constituído por material fecalóide, ovos e vermes, e peritonite.

A ausência de um infiltrado inflamatório tipo supurativo na parede apendicular e caminho fistuloso com lesão das várias camadas, fala a favor de um fermento lítico produzido pelos vermes.

A passagem do conteúdo da luz apendicular para a cavidade abdominal parece-nos ser feita passivamente, isto é, a maior pressão no interior do apêndice, empurrando o conteúdo através do caminho fistuloso para a cavidade abdominal.

Quanto à lesão hepática, parece-nos tratar-se de uma hepatite infecciosa forma fatal sub-aguda, que se desenvolveu no final, sendo possível que essa infecção tenha contribuído para diminuição da resistência tissular e tenha facilitado a perfuração.

#### RESUMO

É apresentado um caso de apendicite aguda perforativa por *Trichocephalus trichiurus* com infestação maciça por êsse helminto, demonstrando-se microscopicamente o caminho fistuloso na parede apendicular, dando passagem ao conteúdo — material fecalóide, ovos e vermes adultos — para a cavidade abdominal. Chama-se a atenção para a ausência

de um exsudato inflamatório do tipo supurativo, encontrado nas apendicites agudas; a discreta reação inflamatória e a dissociação dos tecidos fala a favor de um fermento lítico produzido pelos vermes. É possível que a presença de uma hepatite infecciosa, no presente caso, diminuindo a resistência do paciente, tenha contribuído para facilitar a perfuração apendicular.

*Agradecimentos* — Ao Sr. Justino da Silva, pelas esplêndidas macrofotografias conseguidas.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CAMPOS, E. P. — Colite ulcerativa crônica por estrombilóide. Rev. Inst. Adolfo Lutz 24:51-6, 1964.
2. PESSÓA, S. B. — Parasitologia Médica. 7. ed. Rio de Janeiro, GB., 1967, p. 553-9.
3. FAUST, E. C. — Human Helminthology. 2. ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1939. p. 373-5.
4. ASH, J. E. & SPITZ, S. — Pathology of Tropical diseases. Philadelphia, Saunders, 1945. p. 229.
5. CRAIG, S. F. & FAUST, E. C. — Clinical parasitology. 5. ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1951. p. 317.
6. BELDING, D. L. — Textbook of clinical parasitology. 2.ed. New York, Appleton, c1952. p. 377.

Recebido para publicação em 17 de outubro de 1968.



## MEIO DE CULTURA PARA IDENTIFICAÇÃO PRESUNTIVA DE BACILOS INTESTINAIS GRAM-NEGATIVOS <sup>(1)</sup>

### CULTURE MEDIUM FOR PRESUMPTIVE IDENTIFICATION OF GRAM-NEGATIVE ENTERIC RODS

ETTORE RUGAI <sup>(2)</sup>  
AMAIR DE ARAUJO <sup>(2)</sup>

#### SUMMARY

A culture medium for presumptive identification of enteric Gram-negative rods was studied.

The base stands on production of indol, L. tryptophane deaminase, acid or acid and gas from glycolose and saccharose, urease, H<sub>2</sub>S and on the aspect of the bacterial growth.

The lactose, usually employed as substract for the differentiation of the *E. coli*, was substituted by the gas-indol reactions.

It was also employed the reaction of L. tryptophane deaminase for differentiation of members of *Providencia* group.

#### INTRODUÇÃO

O primeiro meio de cultura para identificação presuntiva de bacilos intestinais Gram-negativos, permitindo a observação de várias reações em um só tubo, foi descrito por RUSSEL <sup>1</sup>.

Modificações desse meio foram propostas para aumentar o número de respostas, e a sensibilidade.

Dessas modificações destacam-se a de KLIGLER <sup>2</sup>, SULKIN & WILLET <sup>3</sup>, que introduziram a reação do H<sub>2</sub>S; SINGER <sup>4</sup> que introduziu a prova da urease e a de BARACCHINI <sup>5</sup> que é a combinação desses meios.

Nesses meios, as amostras de *E. coli* fermentadoras tardias da lactose apresentam reações semelhantes às dos germes patogênicos produtores de gás. As bactérias do grupo *Providencia* também apresentam, com esses meios, reações semelhantes às dos germes patogênicos produtores ou não de gás.

O meio que apresentamos neste trabalho elimina essas falhas pois identifica a *E. coli*

pelas reações gás-indol, e os germes do grupo *Providencia*, pela L-triptófano desaminase <sup>(3)</sup>.

Essas reações foram adotadas por serem sempre positivas e precoces.

#### MATERIAL E METODOS

##### MEIO DE CULTURA

###### a) Base

Triptona .....	10 g
Extrato de carne .....	2 g
Cloreto de sódio .....	5 g
Fosfato dissódico (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O)	2 g
L. triptófano .....	1 g
Solução alcoólica de azul de bromotimol a 1,5% .....	2 ml
Agar "Difco" <sup>(4)</sup> .....	11 g
Água destilada q.s.p. ....	1 000 ml
pH 7,4	

(1) Trabalho realizado na Secção de Coprocultura da Diretoria de Microbiologia e Diagnóstico do Instituto Adolfo Lutz.

(2) Do Instituto Adolfo Lutz.

(3) Esta reação será citada como LTD, daqui por diante!

(4) Outro agar pode ser empregado desde que seja determinada a quantidade ótima.

Adicione todos os elementos à água e aqueça à fervura até dissolver. Ajuste ao pH 7,4 com solução de hidróxido de sódio a 4%. Filtre em algodão. Complete o volume de 1 litro com água destilada. Distribua em balões. Esterilize a 120°C, durante 20 minutos.

b) *Solução de indicador e substratos*

Citrato de ferro amoniacal . . . . .	2 g
Tiosulfato de sódio (Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .5H <sub>2</sub> O) . . . . .	2 g
Sacarose . . . . .	80 g
Glicose . . . . .	10 g
Uréia . . . . .	40 g
Água . . . . .	85 ml

Coloque todos os elementos em um vidro esterilizado, de 150 ml. Arrolhe com rólha de cortiça. Aqueça a 65°C com agitação freqüente, até dissolver. Esterilize mergulhando o vidro em água até o gargalo e aqueça a 65°C, durante 1 hora.

c) *Preparo final do meio*

Base (a) . . . . .	800 ml
Solução (b) . . . . .	14 ml

Fundada a base, resfrie a 65°C aproximadamente. Adicione a solução, com assepsia. Distribua mais ou menos 3 ml em tubos de 12x120 mm, esterilizados, cujo tampão contenha reativo de indol descrito adiante. Incline os tubos deixando uma base de 3 cm de altura aproximadamente. Incube durante 48 horas para controlar a esterilidade. O meio apresenta cor azul-esverdeada.

REATIVO PARA INDOL

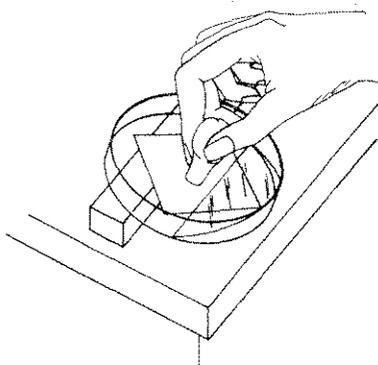
a) *Fórmula*

p-Dimetilaminobenzaldeído . . . . .	1 g
Ácido ortofosfórico (D = 1,70) . . . . .	20 g
Álcool . . . . .	50 ml
Água destilada q.s.p. . . . .	100 ml

Dissolva o p-dimetilaminobenzaldeído no álcool. Adicione o ácido ortofosfórico e a água. Coloque em vidro com rólha esmerilhada.

b) *Aplicação do reativo no algodão*

Esterilize tubos de 12x120 mm, com tampão de algodão hidrófilo. Coloque mais ou menos 10 ml do reativo para indol em uma placa de Petri inclinada e com um pedaço de papel de filtro no fundo. Retire o tampão de algodão do tubo e toque a ponta do papel de filtro um pouco acima do nível do reativo, conforme o desenho abaixo. Recoloque o tampão no tubo que receberá o meio de cultura. Trabalhe com assepsia.



SEMEADURA E INCUBAÇÃO

Semeie em tôda a superfície e pique profundamente a base. Incube de 18 a 24 horas.

MODIFICAÇÕES APRESENTADAS PELO MEIO INOCULADO

1. Meio inalterado, induto bacteriano esbranquiçado.
2. Meio inalterado, induto bacteriano escuro.
3. Base amarela, ápice azul = ácido em glicose.
4. Base amarela com bolhas de gás, ápice azul = ácido em glicose com produção de gás.
5. Base e ápice amarelos, com grande produção de gás que projeta o meio para cima (a parte superior do ápice pode apresentar-se azul-esverdeada) = ácido

em glicose e sacarose com grande produção de gás.

6. Base amarela e prêta<sup>(1)</sup> ápice azul = ácido em glicose e produção de H<sub>2</sub>S.
7. Base amarela e prêta com bolhas de gás, ápice azul = ácido em glicose com produção de gás e H<sub>2</sub>S.
8. Base amarela e prêta com bolhas de gás, ápice amarelo = produção de H<sub>2</sub>S, ácido com glicose e sacarose com produção de gás.
9. Base amarela, ápice verde<sup>(2)</sup> = ácido em glicose e produção de LTD.
10. Base azul, ápice verde = produção de urease e LTD.
11. Base azul e prêta<sup>(3)</sup>, ápice verde = produção de urease, H<sub>2</sub>S, e LTD.
12. Ponta do tampão de algodão vermelho-maravilha = produção de indol.

Pelas indicações referidas as enterobactérias podem ser presuntivamente classificadas de acôrdo com a chave na página seguinte.

#### DISCUSSÃO E RESULTADOS

A lactose como substrato diferencial entre a *E. coli* e outros bacilos intestinais Gram-negativos não é o ideal para um meio de cultura cuja leitura deve ser feita entre 18 e 24 horas de incubação, pela existência de amostras fermentadoras tardias da lactose. Mais racional é o emprêgo das reações gás-indol sempre positivas e precoces.

Os germes do grupo *Providencia*, nos meios similares citados, não se diferenciam dos germes patogênicos produtores de gás ou não por falta de substrato apropriado. Essa diferenciação tornou-se possível pela introdução da reação da LTD, sempre positiva e precoce<sup>6</sup>.

O gênero *Proteus* também poderia ser diferenciado dos outros germes intestinais pela prova de LTD, dispensando, portanto, o emprêgo da uréia. Êste substrato foi mantido para diferenciar o *Proteus rettgeri* e o *Proteus morganii* do grupo *Providencia*. A *Alcaligenes faecalis* e as *Pseudomonas* que não alteram o meio diferenciam-se entre si porque sômente as *Pseudomonas* dão um enduto bacteriano escuro.

Os demais germes apresentam no meio descrito características semelhantes às apresentadas em meios similares citados.

Apesar do grande número de indicações possíveis, o meio proposto não estabelece diferenciação entre *Salmonelas*, *Arizona* e *Citrobacter*.

O mesmo acontece entre o grupo *Hafnia* e as *Salmonelas* assulfidrígenas.

A identificação da *Klebsiela* e do *Aerobacter* continua dependendo das provas quantitativas (crescimento e produção de gás abundantes).

Testado na Secção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, o meio demonstrou ser de grande eficiência e superior aos similares na identificação da *E. coli* e do grupo *Providencia*.

#### RESUMO

Foi estudado um meio de cultura para identificação presuntiva de bacilos intestinais Gram-negativos.

O meio baseia-se na produção de indol, LTD, urease, H<sub>2</sub>S, ácido ou ácido e gás em glicose, ácido e gás em sacarose e no aspecto do enduto bacteriano.

A lactose como substrato diferencial para a *E. coli* foi substituída pelas reações gás-indol.

Foi introduzida a reação da L-triptófano desaminase para diferenciação dos germes do grupo *Providencia*.

(1) A côr amarela pode ser observada na parte inferior da base.

(2) Resultado da côr amarelo-acastanhada que se desenvolve no ápice pela LTD positiva, mais a côr azul do indicador.

(3) A côr azul pode ser observada na parte inferior da base.

Chave para classificação presuntiva de bacilos intestinais Gram-negativos, de acordo com as modificações apresentadas pelo meio após 18 a 24 horas de incubação.

Urease +	LTD +	ácido e gás +	indol +	.....	<i>E. Coli</i>	
				.....	<i>Providencia</i>	
				.....	<i>Proteus</i>	
				H <sub>2</sub> S +	sacarose +	<i>Citrobacter</i>
					sacarose -	<i>Salmonella</i> <i>Citrobacter</i> <i>Arizona</i>
				H <sub>2</sub> S -	Produção abundante de gás projetando o meio para cima	<i>Aerobacter</i>
						<i>Klebsiela</i>
				Produção pequena de gás	<i>Salmonella</i> <i>Sh. newcastle</i> <i>Sh. manchester</i> <i>Hafnia</i>	
					.....	
				Urease -	LTD -	ácido + gás -
indol +	<i>Shigella</i> Sub-grupos A-B-C					
	.....	<i>Alcalescens-dispar</i>				
indol *	<i>Shigella</i> Sub-grupos A-B-C-D					
	.....					
meio inalterado	enduto bacteriano escuro	<i>Pseudomonas</i>				
	enduto bacteriano esbranquiçado	<i>Alcaligenes faecalis</i>				

\* Algumas raças do Sub-grupo B podem dar indol neste meio.

+ Positivo  
- Negativo

*Agradecimentos* — Aos Drs. Augusto E. Taunay e José Roberto Carneiro Novaes, pelo apôio que nos deram para o presente trabalho e aos técnicos Marcelina J. Citrangulo, Ethel Sandoval Peixoto e José Ferreira Brandão, pelo valioso auxílio que nos deram nos trabalhos técnicos.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. RUSSEL, F. F. — The isolation of typhoid bacilli from urine and feces with the description of a new double sugar tube medium. J. Med. Res. 25:217-29, 1911.
2. KLIGLER, I. J. — Simple medium for differentiation of members of the typhoid-paratyphoid group. Amer. J. Publ. Hlth. 7:1042, 1917.
3. SULKIN, S. E. & WILLETT, J. C. — A triple sugar — ferrous sulfate medium for use in identification of enteric organisms. J. Lab. Clin. Med. 25:649-53, 1940.
4. SINGER, J. — Culture of enterobacteriaceae. I. Use of urea triple-sugar Agar. Amer. J. Clin. Path. 20(2):884-5, 1950.
5. BARACCHINI, O. — Identificação de enterobactérias. Meio tríplice açúcar modificado. Hospital (Rio) 49(4):537-9, 1956.
6. RUGAI, E. & RUGAI, R. T. — Meio de cultura para diferenciar o grupo *Proteus* e *Providencia* de outras enterobactérias pela L-triptófano desaminase. Rv. Inst. Adolfo Lutz 24:29-31, 1964.

Recebido para publicação em 12 de novembro de 1968

#### ERRATA

Na chave da página 82, onde se lê *E. coli*, leia-se *Proteus*; onde se lê *Proteus*, leia-se *E. coli*.

---



## CONSIDERAÇÕES EM TÔRNO DA EPIDEMIA DE LEPTOSPIROSES NA CIDA- DADE DE RECIFE EM 1966. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, LABORATORIAIS E CLÍNICOS

LEPTOSPIROSIS: EPIDEMIOLOGICAL, CLINICAL AND LABORATORY STUDIES  
OF AN OUTBREAK OBSERVED IN RECIFE, PERNAMBUCO, BRAZIL, IN 1966

RINALDO DE AZEVEDO (1)  
MARCELO OSWALDO ALVARES CORRÊA (2)

### SUMMARY

The authors reported an outbreak of leptospirosis during June and July, 1966, following severe floods that afflicted the city of Recife, Pernambuco, Brazil.

From the one hundred eight-one cases reported, one was confirmed by necropsy and the remaining by sero-agglutinations tests conducted in the Instituto Adolfo Lutz, of São Paulo, Brasil.

The predominant leptospire was *L. icterohaemorrhagiae* found in one hundred and seventy cases, followed by *L. australis* (five cases), *L. pomona* (three cases), and *L. andamana* (two cases).

The symptoms observed were described and comments made, regarding the frequency of each symptom; the mortality rate was 3.3 per cent.

O surto epidêmico de leptospirose, ocorrido em meados de 1966 em Recife, que constitui objeto da presente publicação, foi o terceiro registrado no Brasil, tendo os dois episódios anteriores ocorrido em 1941 em Pôrto Alegre, Rio Grande do Sul e em 1946 no município de Imbuial, Paraná.

De acôrdo com a publicação de COSTA *et alii*<sup>3</sup> (1942), a enchente ocorrida em Pôrto Alegre em abril e maio de 1941 foi a maior jamais registrada, quando extensas zonas urbanas desapareceram sob as águas do Rio Guaíba, o pôrto e grande parte da zona industrial foram evacuados quase totalmente. Duas semanas após o dia da altura máxima das águas, começaram a aparecer os casos de doença de Weil, que vieram a totalizar 45 casos, clinicamente confirmados, dos quais 17 foram positivados laboratorialmente, a saber: 11 pelo encontro de leptospiras no sedimento urinário, 4 pela inoculação em coelho e dois pelo exame microscópico de órgãos dos pacientes, após a necropsia.

A origem hídrica da epidemia ficou bem estabelecida, pois quase todos os pacientes estiveram imersos na água ou na lama da enchente que atingiu particularmente as zonas portuária e industrial, onde abundam os ratos. A mortalidade foi de 8,3%, ocorrendo os óbitos em pacientes com mais de 45 anos de idade.

Em setembro de 1946, ocorreu uma epidemia entre os habitantes da Colônia Federal "Marquês de Abrantes" no município de Imbuial, situado ao nordeste do Paraná, registrada em nota prévia por MIRANDA<sup>14</sup> (1946). Este surto epidêmico revestiu-se de características clínicas e epidemiológicas completamente diferentes das registradas por ocasião quer da epidemia do Pôrto Alegre quer da epidemia de Recife, objeto da presente publicação. Com efeito, no surto epidêmico em questão, que não foi conseqüência de enchente, dentre cerca de uma centena de casos em apenas um houve icterícia clinicamente apreciável; bronquites e bron-

(1) Da Faculdade de Ciências Médicas e da Faculdade de Medicina de Recife, Pernambuco.

(2) Da Seccão de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo.

copneumonias ao lado de astenia e fenômenos hemorrágicos digestivos foram os sintomas dominantes; o hemograma apresentava leucopenia acentuadíssima, ao contrário do que é norma nas leptospiroses. A mortalidade foi acentuada, pois em 180 casos houve 44 óbitos. Miranda relaciona a epidemia a uma invasão da região por ratos selvagens, acompanhada por grande mortalidade dos roedores; no entanto, em nove ratos capturados, os exames para leptospiroses foram negativos.

### *Situação geográfica*

A cidade de Recife, capital de Pernambuco, com um milhão e pouco de habitantes, está situada no litoral do Estado, a 8°3' Lat. Sul e 8°15' Long. Este do meridiano do Rio de Janeiro. É dotada de pôrto e cortada pelos rios Beberibe, Capibaribe e por outros de menor porte, tais como, Tigipió, Jordão, Camaragibe, Parnamerin, Dois Unidos, Paratibe e os riachos Mumbeca e das Piabas.

Há ainda os canais Derby-Tacaruna, o do Vasco da Gama e o do Prado, onde desaguam pequenos córregos e as galerias de águas pluviais, canais êstes que não dispõem de boa conservação.

O solo se situa apenas a 3 metros acima do nível do mar, notando-se somente elevações nas encostas dos Montes Guararapes e nos subúrbios de Casa Amarela e Beberibe.

Recife se encontra em terreno de aluvião, constituindo uma vasta planície sujeita à ação da água do mar, que lhe chega regularmente pelo fenômeno das marés, e da dos rios, de anos em anos, por ocasião das enchentes.

OLIVEIRA<sup>16</sup>, em sua tese, chega a dizer que em Recife o que não é água foi água ou lembra água.

Grandes extensões de terra foram conquistadas aos mangues e aos rios.

### *Clima*

O clima é quente e úmido, variando a temperatura durante o inverno e o verão, em média de 1 a 2 graus da manhã para a noite, permitindo assim o qualificativo de clima estável; do inverno para o verão, a oscilação é em média de 5 a 6 graus.

Existem somente duas estações: verão que vai de setembro a março, e inverno, de abril

a agosto, dizendo alguém jocosamente que existe apenas uma, verão com chuvas e verão sem chuvas.

A temperatura dominante é de 28 graus, no verão a máxima se eleva a 30 e 31 graus, e no inverno varia entre 25 e 28 graus.

Os meses de inverno são caracterizados pelas chuvas abundantes, não querendo isto dizer que não chova no verão; neste período elas são espaçadas e fortes.

Refere GALVÃO<sup>8</sup> que, em abril de 1886, foi observada a temperatura de 39,6° e em setembro de 1885 a de 11,4°, sendo êstes dados excepcionais.

No quadro I, onde estão registradas as quedas pluviométricas de 1962 a 1966, verifica-se que em outubro de 1966 não houve chuvas em Recife, o que não é habitual. Em maio de 1966, houve uma queda de 524,8 mm e em julho, de 651,5 mm.

Segundo ainda Galvão, a primeira enchente registrada pela História data de 28 de janeiro de 1632, repetindo-se o fato em 1842, 1854, 1866, 1869, 1894, 1897, 1899, sem entretanto determinar Galvão os meses em que ocorreram as enchentes.

Um de nós (R.A.) assistiu às enchentes de 1924, 1938 e 1965, podendo garantir que nenhuma atingiu o nível da enchente de 1966.

Na enchente de 1965, houve realmente grande prejuízo material e registramos algumas perdas pessoais por afogamento e desabamentos de prédios de fraca estrutura. Em 1966, houve na verdade duas enchentes de proporções diversas; a primeira, atingiu Recife em 18 de maio de 1966 e foi resultante das grandes chuvas que atingiram aquela cidade e suas cercanias (vide quadro I), dando margem a que as águas do rio Beberibe e do Capibaribe se avolumassem, provocando desabamentos de morros e inundação das zonas mais baixas próximas das margens dos rios e dos mangues. O escoamento se deu facilmente, e não houve maior rapidez por ter ocorrido maré alta na tarde do dia 19.

A segunda e grande enchente atingiu Recife nos dias 14, 15 e 16 de junho, como resultado de grandes quedas d'água nas cabeceiras do Capibaribe e afluentes.

### *Início do surto*

Poucos dias após a segunda enchente que atingiu Recife em meados de Junho, surgi-

QUADRO I

Queda Pluviométrica em Recife

	1962	1963	1964	1965	1966
Janeiro .....	2,3	39,1	168,7	125,5	82,5
Fevereiro .....	57,2	171,5	204,2	5,3	230,7
Março .....	166,6	409,1	465,9	116,5	157,8
Abril .....	213,0	347,6	444,6	340,3	234,3
Maiο .....	160,0	126,7	343,5	324,4	524,8
Junho .....	573,2	293,1	351,7	471,3	261,8
Julho .....	266,9	225,1	282,6	143,4	651,5
Agosto .....	115,8	83,5	162,9	109,1	111,8
Setembro .....	123,7	31,2	165,0	136,2	255,7
Outubro .....	61,1	7,5	30,7	11,2	0,0
Novembro .....	9,4	33,6	11,5	36,1	105,5
Dezembro .....	66,3	176,6	24,5	32,1	98,8

ram novos e numerosos casos com sintomatologia peculiar, como por exemplo a icterícia, de tonalidade avermelhada, comparável à encontrada na febre amarela; as dores musculares que impediam a locomoção do paciente lembravam o dengue. Outros doentes apresentavam cefaléia intensa, vômitos, hematêmese, oligúria e torpor; nos casos com icterícia, a elevação das taxas de bilirrubinas não era acompanhada *paripassu* pela elevação das taxas das transaminases. Em face dos dados clínicos e epidemiológicos verificados, suspeitamos que estávamos diante de um surto de leptospirose que rapidamente se avolumou a ponto de lotar o Pavilhão Gouveia de Barros, tornando necessária a instalação de outra enfermaria de 66 leitos em outro pavilhão. No dia 29 de junho, pouco mais de dez dias após o nível máximo da enchente, internamos 22 pacientes; até o fim do surto epidêmico colhemos material para exame de 508 pacientes suspeitos de leptospiroses.

Os laboratórios oficiais e particulares não tinham possibilidade de realizar os exames esclarecedores, motivo pelo qual, através do Serviço de Buscas e Salvamento da FAB, entramos em contacto com o Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, o qual imediatamente se pôs à nossa disposição. A remessa das amostras de sangue foi feita através dos aviões de carreira com a colaboração do Serviço de

Buscas e Salvamento da FAB; os resultados eram remetidos através de rádio amadores, através do Telex de um Banco e por via aérea. Através dos rádioamadores mantivemos contactos com o Dr. P. A. Ayroza Galvão, do Hospital de Isolamento Emílio Ribas de São Paulo, sobre a sua experiência na terapêutica do mal.

Comprovação laboratorial específica

Foram examinadas 886 amostras de sangue correspondentes a 508 pacientes, dentre os quais foram diagnosticados 180 casos de leptospirose, sendo 157 com soro-aglutinação positiva ao título igual ou maior que 1:200 e 23 com soro-aglutinação positiva ao título de 1:100, porém com dados clínicos e bioquímicos característicos de leptospirose.

QUADRO II

Número de amostras examinadas .....	886
Número de pacientes suspeitos de leptospirose .....	508
Hemoculturas efetuadas .....	581
Número de pacientes com leptospirose	
Título igual ou maior que 1:200 .....	157
Título de 1:100 .....	23

Em virtude da longa distância entre Recife e São Paulo (2 500 km), e da intensidade com que se desenvolveu o surto epidêmico, não houve possibilidade de efetuar a comprovação laboratorial ideal, mas apenas de nos limitarmos à pesquisa das sôro-aglutininas antileptospiras nos soros dos pacientes; não obstante, tentamos a hemocultura em meio de Fletcher, com as amostras que recebíamos após mais de 24 horas da colheita, porém com resultados negativos em todos os casos que totalizaram 581 amostras. A técnica utilizada para a sôro-aglutinação foi a seguinte:

Retirado o sangue do paciente por punção venosa e colocado em tubo de ensaio, após a retração do coágulo, procede-se à separação do sôro com o qual se prepara uma diluição a 1:50, em solução tampão de fosfatos, da qual se distribuem 5 gôtas em cada escavação das placas de porcelana utilizadas neste processo. Como antígeno usamos culturas em meio de Korthof modificado das seguintes leptospiras, às quais se adiciona formalina, na proporção de 3 gôtas para cada 3 ml de cultura.

### QUADRO III

Quadro demonstrativo das leptospiras usadas como antígenos

Sorotipo	Amostra padrão
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> ..	RGA
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> ..	M 20
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> ..	N 3294
<i>L. grippityphosa</i> .....	Moskva V
<i>L. canicola</i> .....	Hond Utrecht IV
<i>L. pomona</i> .....	Pomona
<i>L. australis</i> .....	Ballico
<i>L. bataviae</i> .....	Swart
<i>L. sejroe</i> .....	M 84
<i>L. pyrogenes</i> .....	Salinem
<i>L. tarassovi</i> .....	Mitis Johnson
<i>L. saxkoebing</i> .....	Mus 24
<i>L. andamana</i> .....	C H 11
<i>L. autumnalis</i> .....	Akiyami A
<i>L. djasiman</i> .....	Djasiman
<i>L. sentot</i> .....	Sentot
<i>L. wolffii</i> .....	3705
<i>L. javanica</i> .....	Veidrat Batavia 46
<i>L. hebdomadis</i> .....	Pasteur

Colocam-se 5 gôtas de cada antígeno na respectiva escavação onde já há 5 gôtas de sôro diluído a 1:50 de tal maneira que a diluição final seja de 1:100, título êste eleito como de valor diagnóstico significativo. Colocam-se as placas em estufa a 28°C durante 2 horas ao fim das quais se procede à leitura em campo escuro, retirando-se as amostras com alça de platina e colocando-as em lâminas.

A sôro-aglutinação é considerada positiva quando pelo menos cinquenta por cento das leptospiras do campo microscópico se apresentam aglutinadas.

Em fase ulterior, procede-se à titulação dos soros positivos para determinada leptospira, preparando-se diluições sucessivas do sôro a partir de 1:100, e usando como antígeno a cultura formolizada da leptospira que aglutinou na prova de triagem. O restante da técnica é igual à que foi descrita anteriormente.

Em 56 casos cuja primeira amostra de sôro deu sôro-aglutinação negativa ou então deu título igual a 1:100, houve a conversão do título das sôro-aglutininas para título diagnóstico conforme é demonstrado no quadro IV.

No quadro V figuram aqueles casos que, apresentando já na primeira amostra examinada sôro-aglutininas em títulos diagnósticos até mesmo elevados, demonstraram ascensão dêsses títulos em amostras posteriores.

Finalmente, no quadro VI estão expostos os títulos máximos obtidos para as diferentes leptospiras, com o respectivo número de casos correspondentes; através de sua análise verifica-se que o principal agente causal foi a *L. icterohaemorrhagiae* com 170 casos.

Em outros dois casos que não figuram no quadro houve co-aglutinação para *L. australis*, em título igual à metade do alcançado com *L. icterohaemorrhagiae*.

A *L. australis* foi a responsável por cinco casos, a *L. pomona* foi o agente etiológico em três casos e a *L. andamana* em dois casos.

QUADRO IV

Quadro demonstrativo dos 56 casos em que ocorreu conversão do título das sêro-aglutininas

Título inicial	Título final					
	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400
Inferior a 1:100 .....	10	6	11	5	6	4
1:100 .....	1	1	4	5	1	2
Total .....	11	7	15	10	7	6

QUADRO V

Quadro demonstrativo dos 27 casos em que houve ascensão do título das sêro-aglutininas

Título inicial	Título final				
	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400
1:200 .....	1	1	4	4	—
1:400 .....	—	1	—	4	—
1:800 .....	—	—	—	6	—
1:1600 .....	—	—	—	3	—
1:3200 .....	—	—	—	—	3
Total .....	1	2	4	17	3

QUADRO VI

Quadro demonstrativo dos títulos máximos de sêro-aglutininas obtidos

Sorotipo	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	Total
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> .....	19	18	27	27	27	38	14	170
<i>L. pomona</i> .....	—	—	1	—	—	1	1	3
<i>L. andamana</i> .....	—	1	1*	—	—	1	—	2
<i>L. australis</i> .....	4	—	1*	1*	1*	—	1	5
Total .....	23	19	28	27	27	40	16	180

\* Casos em que houve co-aglutinação ao mesmo título com *L. icterohaemorrhagiae*.

### OBSERVAÇÕES CLÍNICAS

Resumimos a seguir algumas observações clínicas ilustrativas de diferentes aspectos da doença, bem como dos diferentes sorotipos encontrados.

Obs. n.º 92

J. H. L., com 45 anos de idade, masculino, casado, pardo, paraibano, motorista e residente na Estrada do Encanamento n.º 1107, Casa Amarela, Recife.

Data de entrada — 30-6-1966

Data da alta — 11-7-1966

Ao ser admitido informou que se encontrava doente há 5 dias e o início da doença foi marcada pela febre de grande intensidade, anorexia, astenia. Conjuntivas hiperemiadas. Dores musculares e articulares.

O paciente ao ser internado nos trouxe um electroencefalograma realizado em 6-6-1966, informando haver alterações disrítmicas frustras, de tipo irritativo, de projeção na região temporal esquerda.

Apesar desta situação o paciente não teve nenhuma crise convulsiva durante o período em que esteve internado.

	<i>Taxa</i> <i>unid./ml</i>
Transaminase Glutâmico-oxalacética	56,5
Transaminase Glutâmico-pirúvica	24

*Em 2-7-1966*

O exame de urina acusou um densidade de 1005. O sedimento apresentava-se com leucócitos e piócitos (60 por campo).

#### Hemograma

Eritrocócitos/mm <sup>3</sup>	4 200 000
Hemoglobina (g/100 ml)	13
Hematócrito (%)	40
V.G.M. ( $\mu^3$ )	95
H.G.M. ( $\gamma\gamma$ )	30
C.H.G.M. (%)	32
Leucócitos/mm <sup>3</sup>	6 300
Neutrófilos (%)	
Metamielócitos	0
Bastonetes	1
Segmentados	77

Eosinófilos (%)	6
Linfócitos (%)	16
Basófilos (%)	0
Monócitos (%)	0
Eritrossedimentação (mm 1. <sup>a</sup> hora-Westergreen)	95
Taxa de glicose (mg/100 ml)	80
Taxa de uréia (mg/100 ml)	42

*Em 2-7-1966*

O paciente ao ser admitido acusava a temperatura de 37,6° e no dia seguinte desceu para 36°. Quarenta e oito horas depois subiu a 37,6° e logo depois voltou à normalidade. A tensão arterial se manteve entre 10×8, 12×8, 11×6 e 9×6.

Por medida de precaução prescrevemos o Gardenal para evitar qualquer crise epiléptica. Usamos a Ledermicina 300 mg na dose de uma cápsula de 8 em 8 horas no primeiro dia e, nos seguintes, uma, de 12 em 12 horas. Dose total do antibiótico: 15 cápsulas.

Não houve recaída.

Sôro aglutinação para *L. icterohaemorrhagiae* positiva a 1:6400 em 8-7-66.

Obs. n.º 50

I. B. M., com 42 anos de idade, masculino, casado, branco, pernambucano, motorista, e residente na Rua Piratininga n.º 262, Tigipó, Recife.

Data de entrada — 2-7-1966

Data da alta — 28-8-1966

As condições do paciente ao ser admitido não permitiam prestar qualquer informe. O acompanhante declarou que o mesmo se encontrava doente há 9 dias e que seu mal se iniciou com febre, cefaléia, calafrios, dores pelo corpo, sendo mais intensa nos membros inferiores; há 4 dias surgiu icterícia ao lado de epistaxis profusas, perdendo o paciente grande quantidade de sangue. Houve também hematemeses. Não urina desde que adoeceu. Há dias que não defeca. Há cinco dias está com crises de soluços. Desorientado, pronunciando palavras sem nexos. Melena. Estêve em contacto com as águas da enchente. Fígado ultrapassando 4 dedos o re-

bordo costal. Alcoólatra. No dia 17-7-66 surgiu dormência nas pernas e nevrite no ciático direito; no dia 18, exantema roseolar disseminado e com maior afluência no tórax; no dia 20, artrite no joelho direito e, dias depois, surgiu também no esquerdo; no dia 30, hidrartrose no joelho direito.

O eletrocardiograma revelou: alterações da repolarização ventricular em face ântero-lateral (isquemia sub-epicárdica).

Alterações da repolarização ventricular constituem um dos achados de MEIRA *et alii*<sup>13</sup> que em 1965 publicaram o fundamental estudo sobre "Comprometimento miocárdico na leptospirose. Estudo electrocardiográfico e anátomo-patológico".

O paciente informa que nunca fez este exame, não podendo assim o especialista afirmar se este achado depende da doença em curso.

O exame de urina acusou aspecto turvo, côr amarela, depósito leve, traços de pigmentos biliares. No sedimento, células epiteliais. Urato amorfo, hemácias (4 por campo). Leucócitos (3 por campo).

Hemograma	
Eritrócitos/mm <sup>3</sup>	2 700 000
Hemoglobina (g/100 ml)	8,4
Hematócrito (%)	24
V.G.M. ( $\mu^3$ )	89
H.G.M. ( $\gamma\gamma$ )	31
C.H.G.M.	35
Leucócitos/mm <sup>3</sup>	12 400
Neutrófilos (%)	
Metamielócitos	4
Bastonetes	1
Segmentados	82
Eosinófilos (%)	13
Linfócitos (%)	0
Basófilos (%)	0
Monócitos (%)	0
Eritrossedimentação	
(mm 1. <sup>a</sup> hora-Westergreen)	120
Taxa de glicose (mg/100 ml)	194
Taxa de uréia (mg/100 ml)	160
Bilirrubinas (mg/100 ml)	
Total	12,50
Direta	3,75
Indireta	3,75
T.G.O. (unid./ml)	67
T.G.P. (unid./ml)	35

Em 3-7-1966

Hemograma	
Eritrócitos/mm <sup>3</sup>	2 100 000
Hemoglobina (g/100 ml)	6,5
Hematócrito (%)	19
Leucócitos/mm <sup>3</sup>	6 100
Neutrófilos (%)	
Metamielócitos	0
Bastonetes	0
Segmentados	81
Eosinófilos (%)	3
Basófilos (%)	1
Linfócitos (%)	
Típicos	13
Atípicos	0
Monócitos (%)	2
Taxa de glicose (mg/100 ml)	171
Taxa de uréia (mg/100 ml)	57
Reação de Paul Bunnell	negativa
Reação de Bordet Wassermann	negativa

Em 21-7-1966

*Tratamento* — Este paciente foi um dos casos graves da enfermidade; ao entrar, as suas condições eram precárias e há 9 dias se encontrava em casa sem diagnóstico e sem tratamento. O estado de desnutrição era tão intenso que tivemos que hidratá-lo à base de sôro glicosado nas primeiras 24 horas, apesar de termos verificado em outros pacientes a elevação da taxa de glicemia. Usamos a Ledermicina 300 mg na dose de uma cápsula de 8 em 8 horas nas primeiras 24 horas e depois passamos a usar 1, de 12 em 12 horas, sendo a dose total de Ledermicina, 38 cápsulas. Durante os primeiros dias de internamento o paciente ainda teve epistaxis, hematemeses e melenas.

Usamos vitamina K, Stiptanon e Botropase e não obtivemos resultado, sendo as hemorragias detidas com o emprêgo do Ypsilon (20 cc) em sôro glicosado por via endovenosa gôta a gôta.

Fizemos duas transfusões com sangue total (500 ml).

Usamos também penicilina, inicialmente 12 000 000 u. em sôro fisiológico, gôta a gôta, por dia, durante 2 dias; depois 1 200 000 u. durante doze dias.

A dose de penicilina empregada durante todo o tratamento atingiu a 38 400 000 unidades.

A temperatura do paciente nunca se elevou além de 37,6° e a tônica do seu quadro foram os fenômenos hemorrágicos.

Não houve recaída.

Sôro aglutinação positiva a 1:1 600 para *L. australis* e *L. icterohaemorrhagiae*.

Obs. n.º 100

M. S. N., com 19 anos de idade, masculino, solteiro, branco, pernambucano, sem profissão definida, residente na Travessa do Melo n.º 42, Cordeiro, Recife.

Data de entrada — 30-6-1966

Data da alta — 12-7-1966

Informa que sua doença teve início há 4 dias e que os sintomas iniciais foram cefaléia, conjuntivite, dores articulares e musculares, principalmente no dorso e nas pantorrilhas. Há 3 dias vem tendo tosse com expectoração acompanhada de raios de sangue. Ao ser admitido, persistiam todos estes sintomas.

Refere que teve contacto com águas da enchente. O paciente se mostra astênico, com as conjuntivas congestas. Pela ausculta percebe-se a presença de estertores em ambos os pulmões.

Reação de Widal (5-7-1966) — negativa.

Hemocultura para o grupo tifóidico (7-7-1966) — negativa.

O exame de urina revelou apenas traços de pigmentos biliares e piócitos (1 por campo); a taxa de uréia foi de 60 mg/ml. Febre durante três dias, ao redor de 38°.

A diurese se manteve entre 1900 ml e 3000 ml.

A terapêutica usada foi Ledermicina na dose inicial de 1 cápsula de 8 em 8 horas, durante 48 horas; posteriormente, de 12 em 12 horas, sendo a dose total de 22 cápsulas.

Sôro aglutinação positiva para *L. icterohaemorrhagiae* a 1:400 em 2-7-66 e a 1:3200 em 12-7-66.

Obs. n.º 103

J. S. P., com 40 anos de idade, masculino, casado, pardo, pernambucano, ambulante e residente na Avenida Central n.º 1328, Afogados, Recife.

Data de entrada — 28-6-1966

Data da alta — 8-8-1966

O paciente ao dar entrada informou que se encontrava doente há 6 dias e que a sua

doença teve início com astenia acentuada, ficando completamente prostrado. Dores musculares e articulares. Anorexia. Adenite inguinal que desapareceu no 3.º dia da doença. Náuseas. Urina côr de sangue. Estêve em contacto com as águas da enchente. Conjuntivas congestas e amareladas. Pele intensamente corada de amarelo. Tosse com expectoração. No dia seguinte surgiram fortes e freqüentes enterorragias fazendo perigar a vida do paciente que cada vez se mostrava mais astênico e anemiado. Apesar da temperatura ser apenas de 37,4°, o quadro hemorrágico se apresentava rebelde aos medicamentos; apesar de solicitarmos pelo rádio e televisão sangue para transfusão, não pudemos obtê-lo pela dificuldade no tipo. Insônia. Foi um dos doentes mais gravemente atingidos e por isso sua permanência no hospital se elevou a mais de 40 dias.

O exame de urina revelou acidez, densidade de 1010, aspecto turvo, leve depósito, presença de albumina, ausência de glicose, traços fortes de pigmentos biliares. A sedimentação acusou células epiteliais, pióticos (2 por campo) e cilindros hialinos.

O exame de urina no dia 8 acusava desaparecimento dos cilindros hialinos e da albumina, mantinha-se ácida e com a densidade de 1005.

Outros exames	mg/100 ml
Uréia	144
Glicose (11-7-1966)	90
Uréia (13-7-1966)	112
Uréia	35
Glicose (9-8-1966)	82

Reação de Widal (28-6-1966) — negativa.

Taxa de glicose — 92 mg/100 ml.

Houve extravio dos hemogramas.

Apesar das hemorragias, a tensão se manteve entre 10 × 7 e 17 × 7.

O paciente entrou às 12 h do dia 28 e só veio a urinar no dia 1 de julho às 9h30m da manhã.

Em face de o paciente não suportar os alimentos, instalamos sôro glicosado, gôta a gôta, com Betanutrex. Botropase, 2 ampolas por dia. Vitamina K, 2 ampolas. Ledermicina 300 mg, na dose de uma, de oito em

oito horas. Dose total de Ledermicina, 29 cápsulas.

Em face de não diminuírem os fenômenos hemorrágicos, fizemos Stiptanon no soro glicosado e não obtivemos resultado. Ensaia-mos o Ypsilon no soro glicosado duas vezes ao dia, e os resultados foram surpreendentes.

Este doente teve uma perda de peso aproximadamente de 15 quilos e os sintomas mais rebeldes eram a insônia e as dores nas pernas que prenderam o paciente durante longo tempo na cama. Em virtude do longo tempo que passou internado constituiu-se em um grande auxiliar da enfermagem no tocante a um sistema de informações decorrente da insônia de que era acometido.

Conseguiu recuperar 8 quilos e ao obter alta apresentava estado satisfatório. Quando o paciente passou da fase de anúria e oligúria entrou na de diurese de compensação chegando a urinar 3,6 l nas 24 horas. Em virtude de nos ser fácil o uso de água de côco verde, usamo-la largamente para forçar a barreira renal.

Não houve recidiva.

Soro aglutinação positiva para *L. icterohaemorrhagiae* a 1:6 400 em 10-7-66 e a 1:3 200 em 19-7-66.

Obs. n.º 75

I. R. F., com 20 anos de idade, masculino, solteiro, pardo, pernambucano, ambulante e residente na Rua Manuel Azevedo n.º 29, Mustardinha.

Data de entrada — 1-7-1966

Data da alta — 21-7-1966

Informa que se encontra doente há 6 dias, tendo se iniciado o seu mal com febre, cefaléia, calafrios, transpiração abundante, urina vermelha. Há 2 dias surgiu icterícia. Dores nas pernas. Astenia. Vômitos biliosos. Tosse com expectoração. Adenites inguinais dolorosas. Fígado a 2 dedos do rebordo costal. No dia 7 surgiu exantema morbiliforme.

Taxa de uréia (mg/100 ml)	160
	Em 3-7-1966
Hemograma (8-7-1966)	
Eritrócitos/mm <sup>3</sup>	3 000 000
Hemoglobina (g/100 ml)	9,2

Hematócrito (%)	27
V.G.M. ( $\mu^3$ )	90
H.C.M. ( $\gamma\gamma$ )	30
C.H.G.M. (%)	34
Leucócitos/mm <sup>3</sup>	8 800
Neutrófilos (%)	
Metamielócitos	5
Bastonetes	8
Segmentados	65
Eosinófilos (%)	4
Linfócitos (%)	
Típicos	15
Atípicos	2
Monócitos (%)	1
Eritrossedimentação	
(mm 1.ª hora-Westergreen)	129
Taxa de uréia (mg/100 ml)	38
Taxa de glicose (mg/100 ml)	110

Em 11-7-1966

A temperatura na admissão era de 37°, no dia seguinte subiu a 38°. No dia imediato era 37,4° pela manhã e à tarde desceu para 36,3°. Daí em diante manteve-se apirético com exclusão da tarde do dia 11 em que teve uma elevação para 38°.

A tensão arterial se manteve entre 10 × 5, 10 × 7 e 11 × 7.

O tratamento consistiu no emprêgo da Ledermicina 300 mg na dose inicial de 1 cápsula de 8 em 8 horas nas primeiras 24 horas e, em seguida, de 12 em 12 horas. Dose total: 24 cápsulas. Medicação auxiliar: Vitaminas com sais minerais, Gardenal, Vitamina B<sub>1</sub>, Chofitol.

Não houve recaída.

Soro aglutinação positiva para *L. australis* a 1:6 400 em 8-7-1966.

Obs. n.º 14

M. C. S., com 50 anos, feminino, solteira, preta, pernambucana, doméstica e residente na rua Aparecida, Ilha de Janeiro, Espinhoiro.

Data de entrada — 4-8-1966

Data da alta — 18-8-1966

Informa que se encontra doente há 12 dias e que sua doença começou, com febre, calafrios, vômitos biliosos, dor no hipocôndrio direito e na região epigástrica. Anorexia. Cefaléia. Estêve em contacto com

águas da enchente durante uma hora, com água pela cintura. Não houve ferimentos. Conjuntivas congestas. Fêz uso de Penicilina antes do internamento, não precisando a dose.

Hemocultura (grupo tifóidico)	
Em 5-8-1966	Negativa
Reação de Widal	
Em 6-8-1966	Negativa
Exame de urina	
Em 6-8-1966	Normal
Taxa de glicose (mg/100 ml)	85
Taxa de uréia (mg/100 ml)	31
T.G.O. (unid./ml)	44
T.G.P. (unid./ml)	37

O tratamento foi feito à base de repouso e alimentação adequada.

Sêro aglutinação positiva para *L. pomona*, a 1:3 200 em 8-8-1966 e a 1:6 400 em 15-8-1966.

Obs. n.º 97

W C. F., 35 anos de idade, masculino, casado, branco, pernambucano, relações públicas, e residente à rua Dr. João Costa n.º 156, Afogados, Recife.

Data da entrada — 8-7-1966

Data da alta — 21-7-1966

Ao entrar encontrava-se doente há 2 dias. Sua doença teve início com raquialgia, dores lombares com irradiação para os testículos, febre, calafrios, cefaléia, dores articulares, urina hiperconcentrada, prisão de ventre, vômitos, anorexia.

Refere que teve contacto com águas das enchentes. O sintoma que mais o incomodava era a cefaléia muito intensa.

Estado geral muito bom e o paciente bem nutrido, corado e obeso.

O exame de urina mostrou-se normal (11-7-1966).

Hemograma	
Eritrócitos/mm <sup>3</sup>	5 000 000
Hemoglobina (g/100 ml)	15,2
Hematócrito (%)	48
V.G.M. (μ <sup>3</sup> )	86
H.G.M. (γγ)	30
C.H.G.M. (%)	55
Leucócitos/mm <sup>3</sup>	3 800

Neutrófilos (%)	
Metamielócitos	1
Bastonetes	5
Segmentados	74
Eosinófilos (%)	1
Basófilos (%)	0
Linfócitos (%)	
Típicos	16
Atípicos	0
Monócitos (%)	3
Eritrossedimentação	
(mm 1.ª hora-Westergreen)	70
Taxa de glicose (mg/100 ml)	170
Taxa de uréia (mg/100 ml)	72
	Em 12-7-1966
Taxa de glicose (mg/100 ml)	162
Taxa de uréia (mg/100 ml)	26
	Em 19-7-1966
Taxa de glicose (mg/100 ml)	135
Taxa de uréia (mg/100 ml)	25
Taxa de amilase	
(μ Myers/100 ml)	44
	Em 20-7-1966

A temperatura do paciente na ocasião em que foi admitido era de 39°. No dia seguinte pela manhã era de 37°, e à tarde desceu para 36°. No outro dia pela manhã se elevou a 38°. Na manhã seguinte estava apirético e assim se manteve até obter alta.

O eletrocardiograma revelou:

“Ritmo sinusal. Traçado normal”.

(ass. Dr. José Ribamar Rodrigues)

A diurese inicial era de 165 ml/dia e depois se elevou a 2500 ml, voltando depois a 1650 ml para novamente se elevar a 3200 ml. Ao obter alta estava urinando 2750 ml ao dia.

A medicação usada foi a seguinte: Ledermicina 300 ml, 1 de 12 em 12 horas. Gardenal 0,10 à noite. Dieta hipoglicídica e aprotéica. Água de côco verde e água mineral Serra Branca (Litinada).

Ao obter alta ficou aos cuidados do Dr. Cesário de Melo a fim de corrigir a taxa de glicose que se mantinha elevada.

Não houve recaída.

Sêro aglutinação positiva para *L. andamana* a 1:800 em 19-7-1966 e ao título de 1:3200 em 25-7-1966.

EPIDEMIOLOGIA

É fato já cediço a ocorrência de surtos de leptospirose após as enchentes em zonas onde ela é endêmica, tal como ocorreu em Pôrto Alegre em 1946.

Entre os nossos 181 pacientes, verificamos que 170 estiveram em contacto com as águas e lama das enchentes, 4 referiram que no local de trabalho a presença de ratos era habitual e 6 informaram que em suas residências era comum a presença de ratos.

A presença de ratos nas residências determina a contaminação de alimentos e do próprio solo e, como o nosso povo gosta muito de andar descalço, não é difícil a contaminação.

Dos nossos pacientes, 160 (88%) estiveram em contacto com as águas da enchente, variando a permanência entre algumas horas e vários dias.

Não houve referência de ferimentos e, se os houve, não foram de ordem a chamar a atenção das vítimas; entretanto, em sã consciência, não se pode afastar esta hipótese, pois muitos trabalharam descalços e de calção por necessitarem nadar na operação de salvamento.

Um paciente trabalhava colocando e retirando barcos dentro d'água, no Iate Clube, que fica situado na bacia do Pina, local onde há abundância de ratos; outros dois pacientes se infectaram durante pescarias.

Sete pacientes referiram que não estiveram dentro d'água porém trabalharam dentro da lama.

Em seis pacientes, obtivemos a referência de que havia muitos ratos na residência, aumentando muito o seu número com a cheia, pois eles, fugindo das galerias, dos cais, e das casas atingidas pelas águas, invadiam as residências situadas em zonas secas.

Segundo o trabalho de Paraym (1967), a fauna murina conta com, aproximadamente, 5 milhões de exemplares e, apesar disso, não se tem tomado providências para reduzir tal população.

O Prof. Ivan Alecrim, da Universidade Federal de Pernambuco, examinando 72 exemplares de *R. norvegicus*, capturados pelo DNERu nos bairros de Afogados e Cordeiro, encontrou, respectivamente, a incidência de leptospiroses em 20% e em 10% dos ratos examinados.

As condições de higiene do bairro de Afogados são muito precárias; há grandes alagados, canais, abundância de terrenos baldios onde o lixo é depositado, oferecendo condições ótimas à proliferação de roedores; desse bairro recebemos 24 pacientes.

O bairro de Cordeiro é um pouco melhor, mas guarda as mesmas características, tendo contribuído com 16 pacientes.

O *Rattus alexandrinus* é mais encontrado na zona portuária, no cais junto ao rio Capibaribe e nos canais que cortam a cidade.

No Hospital dos Alienados, que dispõe de uma grande área cortada por um canal, conseguimos, numa semana, matar 327 ratos, sem contar os que morreram nas tocas pelo cianogás.

Dentre nossos doentes, alguns vieram de outros municípios, tais como, Olinda, Iguaçu, Camaragibe, Chã de Alegria, Vitória de Santo Antão, isto é, da zona da mata, num atestar frisante de que a fauna silvestre também deve estar contaminada.

A topografia da cidade de Recife aliada às condições de higiene da zona urbana — bairros de São José, Santo Antônio e Boa Vista — com suas velhas construções, oferece condições magníficas para a proliferação de roedores.

Todos esses bairros são cortados pelo rio Capibaribe e os cais apresenta tocas de ratos com uma frequência de espantar, sendo comum, durante a noite, o atropelamento de ratos por automóveis.

A distribuição da procedência dos casos de leptospirose pelos diferentes bairros de Recife foi a seguinte:

Afogados .....	24
Cordeiro .....	16
Casa Amarela .....	15
Zumbi .....	12
São José (zona urbana) .....	11
Espinheiro .....	10
Campo Grande .....	9
Boa Vista .....	9
Torre .....	8
Santo Amaro .....	6
Madalena .....	6
Casa Forte .....	5
Água Fria .....	4
Boa Viagem .....	4
Engenho do Meio .....	3
Graças .....	3
Tigipió .....	2

Bongi .....	2
Iputinga .....	2
Prado .....	2
Areias .....	2
Derby .....	1
Beberibe .....	1
Localização incerta .....	1

Na relação acima, o último caso, de localização incerta, refere-se a um soldado que trabalhava em várias zonas contaminadas.

Como dissemos anteriormente, a grande queda d'água no interior fêz com que vários municípios banhados pelo Capibaribe sofressem os malefícios da enchente, tanto assim que tivemos outros pacientes de municípios distantes como se observa na relação seguinte:

Olinda .....	9
Jaboatão .....	7
Igarauçu .....	2
Camaragibe .....	1
Vitória de Santo Antão .....	1
Cabo .....	1
Chã de Alegria .....	1

Últimamente observamos casos provenientes de Timbaúbas e Bezerros, município êste da zona do Agreste.

Pela sua resistência à infecção, o rato se apresenta como um reservatório dos mais temíveis, sendo o maior responsável pelas contaminações nos casos de leptospirose, não se podendo dar tréguas ao combate dêsse roedor, a fim de que, diminuindo o seu número, baixe o índice de contaminações. De seu papel preponderante como reservatório diz melhor o quadro seguinte, em que figuram os diferentes estudos feitos entre nós sôbre a incidência de leptospiroses em ratos (Quadro VII).

Urge que se amplie a ação do DNERu no combate e estudo da nossa fauna murina, não só urbana como silvestre, a fim de que se possa fazer um balanço da situação.

Torna-se necessária a instalação de um Centro de Diagnóstico de Leptospirose em Recife, que poderá atender à imensa região do Nordeste, pois não podemos, na rotina, lançar mão dos meios que usamos na emergência do surto epidêmico.

QUADRO VII

Cidade	Autores	Ano	%
Rio de Janeiro .....	Aragão	1927	16,67
São Paulo .....	Smillie	1921	9,76
Rio de Janeiro .....	Lins	1925	23,2
Salvador .....	Araújo	1928	50,0
São Paulo .....	Fonseca & Prado	1931	13,8
Rio de Janeiro .....	Fialho	1936	28,2
São Paulo .....	Forattini	1947	31,37
Rio de Janeiro .....	Santos	1947	27,5
São Paulo .....	Nóbrega	1947	62,5
Belém .....	Deane	1947	19,6
São Paulo .....	Gomes <i>et alii</i>	1948	15,05
São Paulo .....	Guída & Monici	1949	59,7
São Paulo .....	Guída	49/50	45,83
Santos .....	Gomes <i>et alii</i>	1949	6,35
Pôrto Alegre .....	Silva	1951	15,1
Belo Horizonte .....	Barbosa & Hipólito	1952	44,2
São Paulo .....	Guída	1952	50,2
Curitiba .....	Enrietti	1954	78,0
Salvador .....	Andrade & Oliveira	1954	29,25
São Paulo .....	Meira & Santa Rosa	1964	71,4

A distribuição dos casos pelos diferentes grupos etários foi a seguinte:

De 1 a 10 anos .....	2
11 a 20 anos .....	28
21 a 30 anos .....	66
31 a 40 anos .....	40
41 a 50 anos .....	33
51 a 60 anos .....	10
mais de 60 anos .....	2

A distribuição, quanto ao sexo foi a seguinte:

Masculino .....	159
Feminino .....	22

Nos trabalhos de salvamento que se desenrolam por ocasião das enchentes, sendo, por motivos óbvios, muito maior a participação dos homens, não é de se estranhar a preponderância da incidência das leptospiroses observadas no sexo masculino.

#### *Influência da profissão*

Geralmente os autores que têm tratado do assunto dão grande valor à profissão dos pacientes, apresentando-se a infecção em certos casos com características de doença profissional, reconhecido como tal pela legislação trabalhista, dando pois margem a questões no fôro da infortunistica como acontece por exemplo com os trabalhadores dos arrozais na Itália, como os cortadores de cana de açúcar na Austrália, com os trabalhadores de esgotos e galerias pluviais etc.

Na epidemia ora em estudo, uma grande parte da população esteve sob a ação das águas da enchente, independentemente da atuação profissional e do índice econômico-social.

O mapa, na página seguinte, mostra as zonas inundadas e as submersas pelas águas.

O quadro VIII expõe a variedade de profissões entre os pacientes e a percentagem de cada uma em relação ao total de casos.

Freqüentemente se indaga se a leptospirose era uma doença já registrada ou se ela surgiu com a enchente.

Com a nossa experiência, podemos apresentar um depoimento pessoal (R.A.), pois trabalhamos há 30 anos no Hospital Oswaldo Cruz e jamais encontramos quadros clínicos semelhantes.

Até a ocorrência da enchente, o Hospital Oswaldo Cruz, que é o único Hospital para

#### QUADRO VIII

*Incidência quanto às profissões*

Profissão	N.º de casos
Domésticas .....	28
Ambulantes .....	28
Sem profissão .....	25
Militares .....	11
Motoristas .....	8
Estudantes .....	8
Operários .....	8
Comerciários .....	7
Pedreiros .....	6
Serventes .....	6
Carpinteiros .....	4
Mecânicos .....	4
Pintores .....	3
Talhador, Padeiro, Vigia, Cobrador de ônibus, Carroceiro, Funcionário Público, Funcionário Público aposentado (2 de cada) .....	14
Agricultor, Capinador da Prefeitura, Sapateiro, Fundidor, Capoteiro, Barbeiro, Cozinheiro, Orives, Contínuo, Ferroviário, Garçon, Estofador, Alfaiate, Marítimo aposentado, Estivador, Encanador, Relações Públicas, Carregador de caminhão, Lanterneiro, Porteiro, Escolar (1 de cada) .....	21
Total .....	181

Doenças Infecciosas, não havia registrado a leptospirose. Igualmente, os hospitais Portugueses e do Centenário, que dispõem de pavilhões de isolamento para pensionistas, não têm registro da doença em data anterior à da enchente.

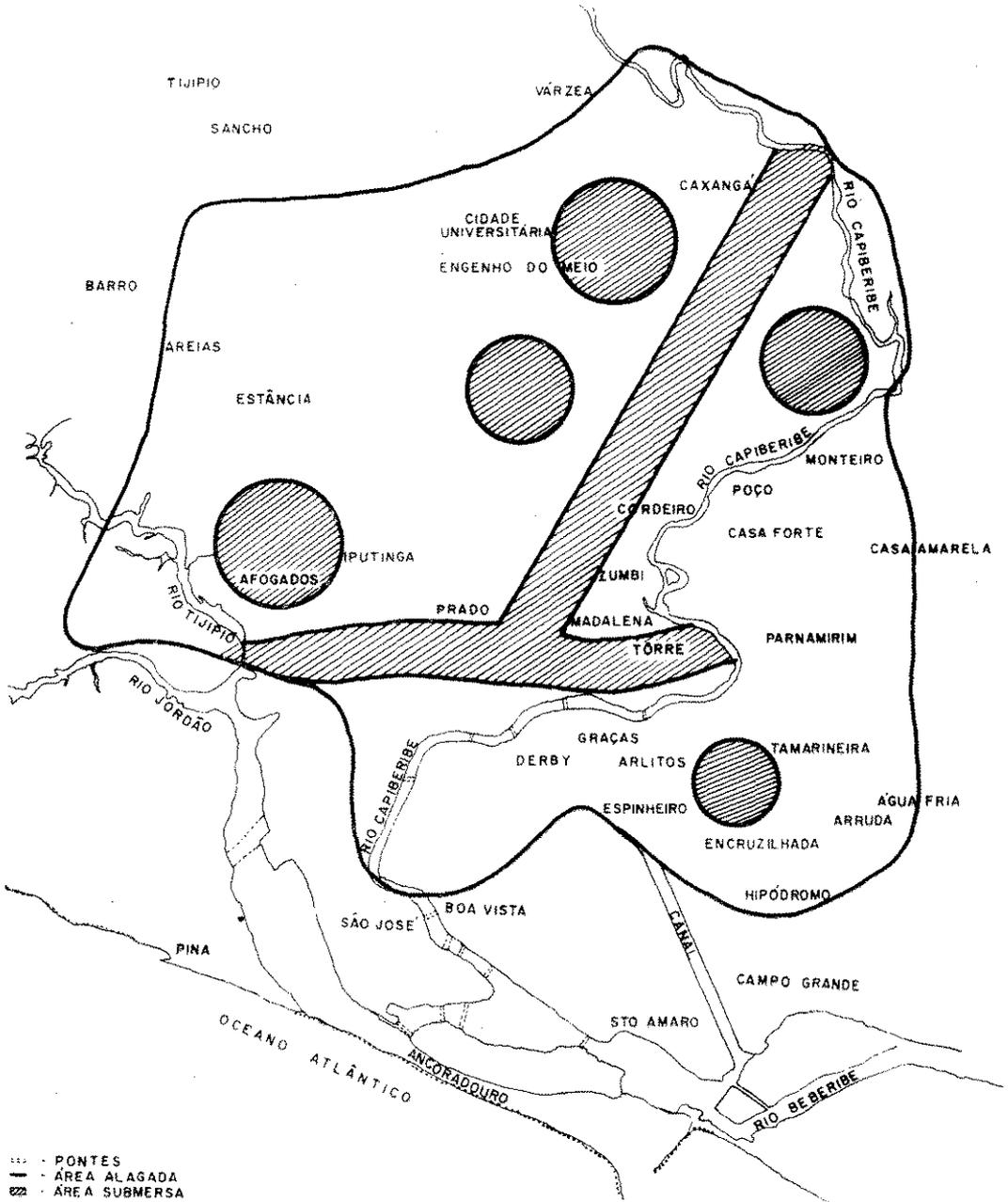
Admitindo-se existirem formas frustras que escapassem à nossa observação, forçosamente apresentar-se-iam formas típicas esclarecedoras do diagnóstico.

Na enchente de 1965 não se observou caso algum de leptospirose, registrando-se raros casos de febre tifóide, sarampo, gripe etc., porém o que mais preocupou as autoridades foi o problema social dos flagelados.

Atualmente, depois de dois anos de observações, podemos dizer que o mal é endêmico e com elevação fortuita.

Tivemos ocasião (R.A.) de ler a tese de doutoramento de MAGALHÃES<sup>11</sup> (1920), na qual relata cinco observações de casos de leptospirose em Pernambuco que constituíram o primeiro registro dessa doença entre nós.

PLANTA DAS ÁREAS ALAGADAS E SUBMERSAS DO RECIFE



A primeira se refere a uma criança de 9 anos que foi mordida por um rato e no dia seguinte havia edema no local da mordedura, que se estendia até o antebraço. Sete dias depois houve febre alta, acusando dores por todo corpo. Dr. Otávio de Freitas era o seu médico assistente, fazendo nessa ocasião o diagnóstico de Doença de Weil. Informa que a pesquisa do espiroqueta (assim era a denominação da época) foi negativa. Foram feitas inoculações em cobaios e estes morreram 22 dias depois e foram encontradas *Spirochetas icterohemorrágicas* no fígado, nos rins e nas suprarrenais; houve hemorragias anu-genitais e no focinho.

Confessamos que o caso poderia ter sido de *Sodoku* e o *Spirillum minus* ter sido tomado como leptospira, pois a nossa bacteriologia ensaiava os primeiros passos, época em que o próprio Noguchi confundiu a Doença de Weil com a febre amarela.

A segunda observação, a terceira e a quarta são de pacientes também do Dr. Otávio de Freitas, dos quais recebeu somente a urina e dados sobre a doença dos mesmos; em ambos encontrou o "espiroqueta" no sedimento urinário.

Os três pacientes eram de Caruaru e naquele tempo só com muitas horas se poderia atingir o Recife, tornando assim difícil a pesquisa elucidadora.

A quinta observação é de uma paciente de Bom Conselho onde também a pesquisa na urina foi positiva mediante impregnação pela prata.

#### DADOS CLÍNICOS

As doenças infecciosas apresentam-se em aspectos variáveis, em caráter epidêmico ou endêmico, sofrendo modificações que nos são apontadas pela história. Lembremos, à guisa de documentação, que a peste entre nós apresenta uma mortalidade inferior à observada nos estados do sul, e que no nordeste ela pode apresentar-se sob a forma ambulatória, totalmente mascarada pela pobreza e ausência de dramaticidade na sua invasão.

Tratando-se do primeiro surto de leptospirose observado entre nós e levando-se em conta que, tendo a doença incidido particularmente em pessoas de baixo índice econômico, onde as condições alimentares são deficientes e onde muitas ingerem bebidas alcoólicas, além de serem portadoras de parasitoses intestinais comuns à região, seria de

esperar elevado índice de mortalidade. No entanto, a mortalidade registrada foi de 3,3%.

Passemos a estudar os sintomas mais frequentes de acordo com o quadro IX.

*Início brusco* — Um sintoma muito referido pelos autores e pelos doentes é a subitaneidade do início da doença. Alguns pacientes chegam a determinar a hora em que caíram doentes, pois os primeiros sintomas vêm tão de repente e com tão acentuada dramaticidade, principalmente a febre, os calafrios, a mialgia e a cefaléia, que o momento em que chegam fica marcado para o doente.

*Febre* — Este sintoma foi o mais frequente, registrando-se em 99,4% dos pacientes; apenas um não acusou febre, porém talvez esse sintoma tenha ocorrido sem ser comprovado.

#### QUADRO IX

Frequência dos sintomas nos 181 casos observados

	N.º de casos	%
Febre .....	180	99
Mialgia .....	145	80
Calafrios .....	138	76
Astenia .....	115	63
Artralgia .....	110	60
Cefalalgia .....	108	59
Icterícia .....	87	48
Conjuntivas congestas .....	72	39
Vômitos .....	69	38
Anorexia .....	66	36
Insônia .....	64	35
Tosse .....	43	23
Hepatomegalia .....	40	22
Escarros hemoptóicos .....	32	17
Prisão de ventre .....	30	16
Adenite .....	28	15
Dor no ventre .....	25	13
Melena .....	24	13
Diarréia .....	22	12
Torpor .....	20	11
Delírio .....	17	9
Epistaxe .....	16	8
Pneumonia .....	12	8
Sudorese .....	10	5
Dormência .....	8	4
Angina .....	8	4
Hematêmese .....	6	3
Esplenomegalia .....	6	3
Herpes labial .....	5	2
Prurido .....	4	2
Enterorragia .....	4	2
Exantema .....	4	2
Hemorragia ocular .....	3	1
Gengivorragia .....	3	1
Alopecia .....	3	1

Sabemos que, muitas vezes, o paciente diz não ter febre mas, ao se tomar a temperatura, esta se mostra elevada.

A febre não é um sintoma que perdure, pois muitos dos nossos pacientes foram hospitalizados já apiréticos e, quando ocorria chegavam febris, dentro de pouco tempo tornavam-se apiréticos; notava-se ligeira ascensão pela manhã, ao contrário do que ocorre na febre tifóide.

*Mialgia* — Esse sintoma foi observado em 145 pacientes (80%), sendo um elemento de grande valor na suspeição diagnóstica e além disso é um sintoma que alarma o paciente e o obriga a permanecer no leito. Muitos dos nossos pacientes vieram em ambulância ou carregados em cadeiras pois era-lhes impossível caminhar. As dores são mais acentuadas nas panturrilhas que se mostram flácidas à palpação. A simples palpação provoca dores intensas, que não se situam no trajeto nervoso, sendo difusas em toda a massa muscular.

Observaram-se também dores nas coxas e nos braços, fazendo com que o paciente permanecesse imóvel no leito, precisando, para ser alimentado, da ajuda da enfermagem ou dos companheiros da enfermaria.

*Calafrios* — Em grau de frequência (76%), surgem os calafrios como um dos sintomas mais frequentes.

Os pacientes fixam muito este sintoma pela situação desagradável que provoca.

Mesmo sem haver mais febre, os doentes manifestavam sentir à tarde "arrepios de febre" que, contudo, não chegavam aos calafrios do início. Os calafrios se assemelhavam àqueles observados na malária ou nas bacteremias.

*Astenia* — Os pacientes se queixavam frequentemente de acentuada fraqueza que os obrigava, durando este estado, a permanecer no leito algum tempo, fazendo prolongar a convalescença.

*Artralgia* — Foram verificadas em 60% dos pacientes, dificultando sua movimentação e parecendo ser, em alguns pacientes, já na fase de regressão da doença, como que um recrudescimento do processo. Alguns, apresentaram artrites na convalescença e um deles, hidrartrose, sem entretanto haver a volta da dramaticidade do início.

*Cefalalgia* — Em 5,9% dos pacientes, observamos cefaléia intensa, dificultando muitas vezes o sono do paciente. É uma queixa muito freqüente e duradoura.

*Icterícia* — Este sintoma geralmente é que faz o paciente procurar internamento, na suposição de se encontrar com hepatite a vírus.

Atualmente a leptospirose se apresenta sob o aspecto de endemia, mas ainda não se criou entre nós o conceito de que não é somente a hepatite a vírus a responsável pelo estado icterico.

A icterícia na leptospirose se revela com características bem diferentes daquelas que estamos habituados a ver na malária, na hepatite a vírus e na icterícia obstrutiva. A tonalidade do amarelo é bem diversa, comparada por alguns autores à cor de cobre polido e por outros, à cor de laranja.

Em verdade, a cor observada resulta da ação de dois componentes da pele que se superpõem. A bilis dispersa na pele e na conjuntiva dá uma coloração amarela, mas ocorre que a teia de capilares se dilata e provoca uma coloração vermelha da pele, como se fôra um exantema; esta superfície vermelha transparente cobrindo uma superfície amarela daria em conjunto a tonalidade alaranjada, que se destaca em determinadas partes, tais como nas regiões malares, mento, região externa e conjuntivas oculares.

Dos ictericos, 79 tiveram exame positivo para *Leptospira icterohaemorrhagiae*; 1, foi positivo para *L. icterohaemorrhagiae*, 1:400 e *L. australis* 1:400; 1, para *L. pomona*, com o título de 1:3200, sendo que este paciente teve fenômenos hemorrágicos; 1, para *L. andamana* a 1:100, apresentando também fenômenos hemorrágicos; 1, para *L. australis* e para *L. icterohaemorrhagiae* a 1:1600; 1, para *L. australis* a 1:800; outro, com aglutinação de 1:6400 (obs. n.º 75) e mais dois, com aglutinação de 1:100.

Diante disto, temos que concluir que não é somente a *L. icterohaemorrhagiae* a responsável pelos fenômenos ictericos e hemorrágicos.

*Conjuntivas congestas* — Este é um sintoma bastante freqüente (39%), não ocorrendo na hepatite a vírus, onde a esclerótica se apresenta amarelada, mas os vasos permanecem com calibre normal.

*Vômitos* — Ao lado da anorexia (36%), o paciente é perturbado por vômitos (38%), o que dificulta bastante a recuperação, pois se instala um quadro psíquico onde o paciente rejeita os alimentos a fim de evitar os vômitos. Os vômitos são biliosos e às vezes acompanhados de hematêmese (3%).

*Insônia* — É outro sintoma que não encontramos na hepatite a vírus na mesma frequência com que ela se apresenta na leptospirose (35%). Surge no início da doença, permanece em todo o período de estágio e se prolonga durante a convalescença. Cede, entretanto, a pequenas doses de barbitúricos (0,10 a 0,20 g por dia).

*Tosse* — O registro da leptospirose veio esclarecer casos de pneumonia atribuídos a outra etiologia; havia pacientes com tosse (23%), sem entretanto apresentarem quadro pneumônico (8%).

Os pacientes expectoravam às vezes escarros hemoptóicos (17%), porém ao raios X não se encontraram focos pneumônicos, concluindo-se pois serem as lesões puramente brônquicas, resultantes provavelmente da dilatação dos vasos da mucosa brônquica.

*Hepatomegalia* — Os pacientes geralmente queixavam-se de dor no ventre, principalmente no hipocôndrio direito, mas nem sempre o fígado mostrava aumento de volume (22%), variando o aumento de 2 a 6 dedos transversos ultrapassando o rebordo costal.

Verificamos, entretanto, que entre os doentes que apresentavam os maiores aumentos, havia casos de alcoolismo.

Um dos nossos pacientes apresentava grande hepato-esplenomegalia, portador que era de esquistossomose mansônica. Esse caso evoluiu para a cirrose com acentuada ascite e desfecho letal, apesar de já se encontrar curado da leptospirose.

*Adenite* — Este sintoma deve ser sempre pesquisado, passando muitas vezes despercebido aos pacientes, pois é a reação proximal dos gânglios à penetração do germe.

Pode a adenite ocorrer como reação de ordem geral, sem característica de adenite satélite, como ocorre em outros processos infecciosos.

Verificaram-se adenites em 15% dos casos.

*Herpes labial* — Foi observado em 5 pacientes este sintoma cujo aparecimento resulta da reativação de infecção latente que pode trazer complicação.

*Exantema* — Em pleno período de estágio, pode surgir um exantema, apresentando-se ora sob o aspecto morbiliforme ora em róseolas.

Um de nossos pacientes apresentou exantema sob estes dois aspectos. O paciente da obs. n.º 154 apresentou exantema purpúrico no tórax e morbiliforme nos membros.

*Alopecia* — Durante a fase de internamento, os pacientes se queixaram de queda de cabelo, o que é comum nos processos febris, sem entretanto chegar a criar problemas de ordem estética. No entanto, um dos pacientes apresentou alopecia aguda, caindo o cabelo completamente; o cabelo não suportava a mais leve tração, sendo retirado de uma só vez às centenas, e sem produzir a mais leve dor. Ao deixar o hospital, o paciente apresentava alopecia total do couro cabeludo.

*Aparelho ocular* — Graças a boa vontade do colega Altino Ventura, pudemos examinar o aparelho ocular de todos os pacientes; verificamos apenas congestão ocular e não observamos hemorragia no segmento posterior; os doentes queixavam-se de visão amarelada.

Sendo a córnea dotada, segundo TESTUT<sup>22</sup>, de um sistema lacunar que serve de reservatório de linfa, certamente isto explica a modificação na cor referida pelos pacientes.

*Formas nervosas* — A leptospirose é uma infecção que pode produzir formas nervosas graves, traduzindo-se por uma meningo-encefalite que condiciona a morte do paciente.

Há entretanto sintomas de ordem nervosa que estão sempre presentes, tais como torpor, dores generalizadas, astenia, insônia, delírio etc.

O paciente J. F. (obs. n.º 48), hospitalizado no 6.º dia da doença, relatou que havia estado durante longo tempo em contacto com as águas da enchente; apresentava febre alta, calafrios, dores nas pernas e grande astenia. Ao ser hospitalizado estava em coma. O L.C.R. apresentava-se xantocrômico, límpido e sem coágulo. Células monocíticas,

em número de 54,3/mm<sup>3</sup>. Hemácias, ausentes. Proteínas totais, 0,60 g/100 ml. Globulinas Ross-Jones ++++. Pandý +. Weichbrod<sup>+</sup>+. Takata-Ara, rósea com floculação discreta. A sôro-aglutinação foi positiva a 1:100 para *L. icterohaemorrhagiae*.

O paciente faleceu e o cadáver foi enviado ao Serviço de Verificação de Óbitos. O laudo de necrópsia consta no capítulo de Anatomia Patológica.

O paciente J.H.L. (Obs. n.º 92) era epiléptico, o diagnóstico foi comprovado pelo electroencefalograma; no entanto não ocorreu crise alguma.

#### DADOS BIOQUÍMICOS

Tornou-se rotina no atendimento de nossos pacientes a solicitação das taxas de bilirrubinas (total, direta e indireta), das transaminases, de uréia e de glicose; de alguns pacientes requisitamos provas de função hepática e taxa de amilase.

Desde logo, o que chama a atenção do clínico é a divergência de elevação dos valores das transaminases e das bilirrubinas. A propósito, temos o depoimento de um colega analista que nos disse ter constatado tais casos em seu laboratório, sendo levado a acreditar que seus reagentes estavam com defeito, pois desconhecia até então a existência de leptospiroses entre nós; como não é clínico, ignorava o detalhe de que as transaminases não se elevam nas icterícias leptospiróticas ou se elevam pouco; entretanto jamais observamos, as grandes elevações (mil ou mais unidades) como ocorre nas hepatites a vírus.

Sendo o fígado e o rim bastante comprometidos nas leptospiroses, é indispensável a dosagem da uréia e a determinação da diurese, pois se não vigiarmos com o máximo cuidado este setor, o paciente pode ser levado a uma uremia rebelde que o poderá levar à morte.

Este exame é que proporciona elementos para determinar a ingestão de protéicos; controlando-se bem a dieta, tem-se boa margem de segurança na recuperação do doente.

Outro exame de rotina é a determinação da taxa de glicose sanguínea.

Verificamos em alguns pacientes uma elevação que pode ocorrer por conta de uma

pancreatite, que se traduz clinicamente pela dor que os pacientes sentem no epigástrico e pela elevação da taxa de amilase.

TARTARI *et alii*<sup>21</sup> (1953) descreveram os achados histopatológicos de um caso de leptospirose em que foram encontradas numerosas áreas de necrose e infiltrados inflamatórios do pâncreas; em outro caso, havia evidências clínicas, radiológicas e laboratoriais — elevação da amilase e lipase sanguíneas — sugestivas de pancreatite aguda.

Admite-se que o aumento das transaminases decorre sempre de uma lesão necrótica, como acontece no infarto do miocárdio e em outras doenças onde haja necrose, tal como na hepatite a vírus.

RAZDAN, BHARGAWA & RAI<sup>19</sup> (1965) chamam a atenção para o comportamento dessas enzimas nas necroses intestinais.

Os processos tóxicos pelo tetracloreto de carbono pode condicionar um aumento das transaminases, tanto que LA DUE *apud*<sup>20</sup> em 1966, em provas experimentais em ratos demonstrou que a extensão da necrose hepatocelular está ligada ao aumento da transaminase sérica.

CUADRA, CONTRERAS & DÁVILA<sup>4</sup> (1964) ocuparam-se do assunto sob o aspecto clínico e experimental, verificando também a não elevação das transaminases em certos pacientes com leptospirose; em sete cobaias inoculados com *L. icterohaemorrhagiae* demonstraram aumento desprezível nas taxas de T.G.O. e T.G.P.

De acôrdo com aquêles achados — e com os de outros autores — tudo depende da lesão necrótica que não é encontrada na doença de Weil ao contrário do que acontece na hepatite a vírus, em que a necrose da célula hepática é a lesão característica.

MONTEVERDE & FUMAGALLI<sup>15</sup> (1959) observaram que, em 52 casos de leptospirose, dos quais 10 eram ictericos e 28 sub-ictericos, os maiores valores da T.G.P. foram de 75 e 60 unid./ml, respectivamente.

ELKIS, AMATO & MEIRA<sup>6</sup> (1962) determinaram o teor sérico da transaminase glutâmico-oxalacética em treze casos de leptospirose por *L. icterohaemorrhagiae*, concluindo que a dosagem da enzima em questão, através dos baixos níveis revelados, constitui valioso elemento para o diagnóstico diferencial com a hepatite infecciosa por vírus.

## Comportamento das transaminases em pacientes com e sem icterícia

N.º de ordem	N.º da observação	Icterícia	Sêro-aglutinação para leptospira (Título)	Dias de doença	T.G.O.	T.G.P.	N.º de ordem	N.º da observação	Icterícia	Sêro-aglutinação para leptospira (Título)	Dias de doença	T.G.O.	T.G.P.
1	1	+	L.I.H. 1:3200	14	59	32	36	78	+	L.I.H. 1:400	12	70	34
2	2	+	L.I.H. 1:1600	9	70	42	37	79	-	L.I.H. 1:1600	5	70	44
3	4	-	L.I.H. 1:200	9	80	40	38	81	+	L.I.H. 1:3200	15	92	43
4	5	-	L.I.H. 1:6400	13	42	38	39	83	+	L.I.H. 1:200	12	58	32
5	6	-	L.I.H. 1:3200	15	52	36	40	84	-	L.I.H. 1:100	8	60	34
6	7	-	L.I.H. 1:1600	11	60	44	41	86	-	L. australis 1:400	13	60	33
7	8	+	L.I.H. 1:400	22	65	57				L.I.H. 1:800			
8	9	+	L.I.H. 1:1600	5	70	40	42	90	+	L.I.H. 1:3200	13	60	46
9	11	-	L.I.H. 1:200	6	60	33	43	91	+	L.I.H. 1:100	17	85	70
10	12	+	L.I.H. 1:400	8	38	22	44	92	-	L.I.H. 1:6400	7	56	24
11	13	+	L.I.H. 1:800	15	56	46	45	93	+	L.I.H. 1:1600	7	56	23
12	14	-	L. pomona 1:6400	17	44	37	46	96	-	L.I.H. 1:400	15	70	37
13	15	-	L.I.H. 1:3200	12	60	44	47	98	+	L.I.H. 1:800	13	61	36
14	18	-	L.I.H. 1:100	6	87	47	48	99	+	L.I.H. 1:200	10	43	34
15	19	-	L.I.H. 1:800	8	65	47	49	109	-	L.I.H. 1:3200	9	46	39
16	20	+	L.I.H. 1:800	13	87	56	50	110	+	L.I.H. 1:6400	10	54	40
17	26	+	L.I.H. 1:3200	12	44	27	51	111	+	L.I.H. 1:400	9	52	45
18	30	+	L.I.H. 1:400	6	70	44	52	112	+	L.I.H. 1:3200	9	75	57
19	31	+	L.I.H. 1:800	11	58	33	53	113	-	L.I.H. 1:3200	10	60	39
20	36	-	L.I.H. 1:1600	10	60	37	54	116	+	L.I.H. 1:800	17	94	70
21	42	+	L.I.H. 1:1600	11	57	33	55	117	+	L.I.H. 1:1600	9	56	42
22	45	-	L.I.H. 1:800 L. australis 1:200	9	50	34	56	120	-	L. australis 1:100 L.I.H. 1:800	5	49	35
23	50	+	L. australis 1:1600 L.I.H. 1:1600	15	67	35	57	133	-	L. andamana 1:200	4	52	32
24	51	+	L.I.H. 1:3200	10	67	35	58	134	-	L.I.H. 1:400	11	80	33
25	53	+	L.I.H. 1:3200	7	67	35	59	135	+	L.I.H. 1:3200	22	69	36
26	55	-	L.I.H. 1:3200	7	57	33	60	139	-	L.I.H. 1:100	11	48	40
27	58	+	L.I.H. 1:3200	17	61	42	61	142	+	L.I.H. 1:100	13	10	5
28	60	-	L.I.H. 1:1600	12	57	34	62	143	-	L. andamana 1:400 L.I.H. 1:400	12	10	15
29	61	+	L. australis 1:800 L.I.H. 1:1600	16	73	33	63	144	+	L.I.H. 1:1600	4	172	120
30	67	+	L.I.H. 1:800	11	58	35	64	145	+	L.I.H. 1:100	8	210	60
31	68	+	L.I.H. 1:6400	11	87	35	65	147	+	L.I.H. 1:800	12	160	110
32	71	-	L.I.H. 1:900	5	44	25	66	150	+	L.I.H. 1:1600	8	49	28
33	73	-	L.I.H. 1:400	11	35	33	67	155	-	L.I.H. 1:800	13	72	61
34	76	-	L.I.H. 1:100	11	35	33	68	157	+	L.I.H. 1:3200	9	110	50
35	77	+	L. australis 1:100	9	90	52	69	159	-	L.I.H. 1:3200	6	59	27
							70	162	+	L.I.H. 1:3200	5	270	190

+ Presente

L.I.H. — L. icterohaemorrhagiae

No quadro X discriminamos os valores da transaminase glutâmico-oxalacética e glutâmico-pirúvica de 70 pacientes, assinalando a existência de icterícia, o título da sôro-aglutinação e o número de dias de doença.

Os valores normais para o método utilizado — de Reitman & Frankel — são de 8 a 40 unidades para a T.G.O. e de 5 a 35 unidades para a T.G.P. Para a T.G.O. os valores extremos que encontramos foram de 10 a 270, com o valor médio de 68,86 unidades; para a T.G.P., de 5 a 190, com o valor médio de 43,18 unidades. Verificamos pois que houve pequeno aumento dos valores de T.G.O. e T.G.P., confirmando plenamente os dados anteriormente expostos.

ELKIS *et alii*<sup>5</sup> (1958), estudando o valor da determinação das mucoproteínas séricas ou seromucóides no diagnóstico diferencial das icterícias, verificaram que em casos de leptospiroses ocorriam valores sistematicamente superiores aos normais; nos de hepatite a vírus, ao contrário, obtiveram valores normais ou baixos. Tal verificação apresenta alto valor prático, podendo contribuir para o diagnóstico diferencial entre as duas doenças referidas.

Em 50 de nossos pacientes, efetuamos as dosagens dos seromucóides pelo método de MARTIRANI *et alii*<sup>12</sup> (1959), cujos valores normais expressos em galatose-manose variam de 7,5 a 14,4 de seromucóide; os valores obtidos variaram de 20,3 a 75,6 com o valor médio de 41,82, o que representa cerca de três vezes o valor máximo normal, confirmando pois nossos achado os anteriormente referidos por ELKIS *et alii*<sup>5</sup>.

#### *Febre tifóide nas enchentes*

Em tôdas as enchentes que têm ocorrido no Recife são atingidas as populações ribeirinhas que insistem em construir os seus mocambos às margens do Rio Capibaribe tornando-se assim presa fácil com o subir das águas.

As providências imediatas das autoridades municipais e estaduais consiste em pô-las em abrigos, alimentá-las e cuidar da situação sanitária dos flagelados.

São feitas vacinas antitíficas sistematicamente e essa conduta se repetiu em 1966, em maiores proporções, pois desta vez o número de pessoas atingidas foi muito elevado.

Não temos observado surtos de febre tifóide nessas enchentes.

Um dos nossos pacientes (obs. n.º 20) foi enviado com o diagnóstico de febre tifóide, mas ocorreu que o mesmo havia sido vacinado há pouco tempo e o baixo título do Widal evidenciou que se tratava de uma reação anamnésica.

Entre os nossos pacientes houve infecção tifóide concomitante em dois casos apenas. Ambos não tinham sido vacinados.

#### ANATOMIA PATOLÓGICA

É de real valor o exame anatomopatológico no diagnóstico de Leptospirose.

FIALHO<sup>7</sup> (1939), foi um dos pioneiros neste setor e pôde, mercê de estudo comparativo, separar a febre amarela da leptospirose, numa época em que havia grande confusão clínica.

AREAN<sup>1</sup> (1962) publicou o mais completo estudo da anatomia patológica nas leptospiroses.

Entre nós PENNA *et alii*<sup>18</sup> (1963), relataram seus achados em material obtido em biópsias renais em pacientes com leptospirose, cujo estudo à microscopia eletrônica foi publicada por BRITO *et alii*<sup>2</sup> (1965).

As necrópsias dos nossos casos foram realizadas pelo Professor Ageu Magalhães Filho e este encontrou lesões idênticas àquelas referidas por Fialho.

As lesões de necrose eram raríssimas no caso observado por Fialho e não foram encontradas entre os casos agora estudados.

Nos cinco casos em que foi possível a necrópsia, era intensa a pigmentação icterica da pele, mucosas, tecido celular subcutâneo e endotélios; o fígado se apresentou aumentado de volume, revelando hepatomegalia congestiva, áreas hemorrágicas, dissociação trabecular e alargamento dos espaços de Disse (inflamação serosa de Eppinger) em todos os casos.

Para o lado dos rins verificou-se que eles estavam grandemente comprometidos, destacando-se a cápsula com facilidade e mostrando-se congesta a camada medular. Urteres e bexiga sem anormalidades aparentes.

Ao exame microscópico ficou evidenciada a congestão renal.

Tumefação turva dos cilindros hialinos nos tubos contornados e infiltração histiocitária intersticial.

Os pulmões, órgãos intensamente vascularizados, pagam um pesado tributo à infecção, mostrando-se inteiramente congestos, com zonas de hemorragia; ao corte, deixam fluir líquido hemático e em outras áreas menos congestas o líquido é espumoso e de tonalidade amarela (edema). Os brônquios são também comprometidos e deixam fluir líquido amarelo claro. Fialho encontrou nos brônquios lesões hemorrágicas e isto explica as hemoptises sem lesão pulmonar visível ao Raios X.

Para o lado do aparelho digestivo, tanto no estômago como no intestino, encontramos lesões congestivas e hemorrágicas, confirmando as hematemeses e as melenas que observamos durante a vida.

A necrópsia do paciente J. F. S. (obs. n.º 48) que apresentou um quadro nervoso revelou, ao ser aberta a calota craneana, a dura-máter de coloração amarelada intensa e a superfície cerebral mostrando pontos hemorrágicos e de leve tonalidade amarela (Kernicterus).

O baço se apresentou congesto, com áreas hemorrágicas, o mesmo ocorrendo no pâncreas.

Em resumo, verifica-se que as lesões hemorrágicas são a tônica em todos os achados.

A pesquisa de leptospiras pela impregnação argêntica foi realizada mas não foi possível encontra-las nos cortes.

Transcrevemos a seguir as observações clínicas e os relatórios das necrópsias de dois pacientes.

*Obs. n.º 48*

J. F. S. com 28 anos de idade, masculino, solteiro, pardo, pernambucano, ambulante e residente na Av. Central, 702, São José, Recife.

*Data da entrada* — 29-6-1966

*Data da saída (falecido)* — 2-7-1966

O paciente ao ser admitido não tinha condições físicas e psíquicas de prestar informações. A acompanhante declarou que o mesmo vinha doente há 6 dias e que o seu mal se iniciou com febre alta, dor no hipo-

côndrio direito e nas pernas. O paciente teve contacto longo com as águas da enchente; há 3 dias os olhos ficaram amarelos e a urina avermelhada. Tosse sem expectoração. Conjuntivas hiperemiadas. Fígado ultrapassando um dedo transverso no rebordo costal. O estado de torpor permanecia sem alteração. Antes que chegassem os exames complementares o paciente veio a falecer.

A medicação consistiu em Reverin 150 mg de 8 em 8 horas. Sôro glicosado, Cedilande e Penicilina C — 2 000 000 u./dia.

Exames

Sôro-aglutinação

no liquor	negativa
no sangue	positiva L.I.H. 1:100

Líquido céfalo-raquidiano

Aspecto	Limpido e s/coágulos
Côr	Xantocrômico
Leucócitos	54,3/mm <sup>3</sup>
Hemácias	Ausência
Células mononucleares	100%
Proteínas totais	0,06g/100 ml
Globulinas Ross-Jones	+++

Reações

Nome-Apelt	+++
Pandy	+
Weichbrodt	++
Takata-Ara	Rósea c/discreta flo-culação

*Em 3-7-1966*

*Necropsia n.º 164/66*

(Cadáver remetido pelos Hospital Oswaldo Cruz)

Cadaver do sexo masculino, de côr parda, com 29 anos, bom estado de nutrição. Pele e mucosas coradas de amarelo (icterícia). Olhos com conjuntiva ocular de côr amarela. Genitais externos sem anormalidades.

*Sistema nervoso* — Cabeça: aberta a calota, nota-se dura-máter de côr amarela intensa, superfície cerebral apresenta discreta congestão e leve tonalidade amarela. O cérebro pesa 1.300 g.

### Exame das cavidades

**Tórax** — Cavidades pleurais livres de líquido e aderências.

**Pulmões** — Direto, com 540g; esquerdo, com 590g, superfície pleural lisa brilhante com tonalidade amarela, consistência aumentada, pouco arejado, dando, à expressão, abundante quantidade de líquido espumoso amarelo. Notam-se áreas de côr castanho-arroxeadas, escuras, firmes e hemorrágicas.

**Coração** — Livre no saco pericárdico, pesando 270 g; epicárdio de côr castanha com tonalidade amarela, aberta; apresenta endocárdio de côr amarela, aparelhos valvulares sem anormalidades.

**Cavidade abdominal** — Livre de líquido e aderências.

**Fígado** — Pesa 1.700g, cápsula lisa, coloração castanho-amarelada com áreas de hemorragia em "picada de pulga"; vesícula bem implantada contém bile fluida clara. Canais biliares, livres. Ao corte, o parênquima hepático é de côr castanho-amarelada com áreas de sufusão hemorrágica.

**Baço** — Pesa 160g, aspecto acinoso com áreas de sufusão hemorrágica.

**Rins** — Pesando 150g o direito e 200g o esquerdo, descapsulando-se com facilidade. Superfície côr castanha, lisa, com áreas hemorrágicas em "picada de pulga". Abertos, apresentam as duas camadas bem distintas com pontos hemorrágicos. Pelvis apresenta tonalidade amarela. Ureteres sem anormalidades. Bexiga contendo urina amarela.

**Aparelho digestivo** — *Esôfago*: com mucosa íntegra. *Estômago*, contendo 200 ml de sangue líquido, escuro, e mucosa com muitas áreas hemorrágicas.

**Intestino delgado e grosso** — Apresentam mucosa com áreas de hemorragia e fezes pastosas e negras.

### Conclusões

- a) Icterícia intensa.
- b) Hemorragia pulmonar, congestão e edema.
- c) Congestão, hemorragia punctiforme do fígado. Dissociação trabecular, alargamen-

to do espaço de Disse (inflamação serosa de Eppinger). Hepatomegalia.

d) Hemorragia punctiforme da superfície do parênquima renal. Nefrose.

e) Hemorragia gástrica.

f) Kernicterus. Superfície cerebral com congestão.

a) *Dr. Aggeu Magalhães Filho*  
Prof. Adj. — Assist. S.V.O.

### Obs. n.º 149

A. H. B. F., com 23 anos de idade, solteiro, pernambucano soldado da Polícia Militar de Pernambuco e residente na Rua Manoel Alves Deus Dará, n.º 66, Engenho do Meio — Recife.

*Data da entrada* — 28-6-1966

*Data da saída (falecido)* — 3-7-1966

Conta que sua doença teve início há 5 dias com calafrios e febre, após algumas horas de cefaléia intensa. No dia seguinte, anorexia, astenia, dores musculares generalizadas, vômitos alimentares e diarreia. Nos dias seguintes se acentuaram todos os sintomas e as dores predominavam na face posterior das pernas e na região lombar. Apareceu tosse com expectoração escura e há 24 horas surgiu icterícia, rinorragia e raios de sangue nos vômitos. Durante a cheia o paciente esteve em contacto com as águas durante 48 horas. Ao dar entrada apresentava fácies de sofrimento. Pele e mucosas fortemente icterícias. Gânglios inguinais e subaxilares, palpáveis. Temperatura de 39,4°.

Frequência cardíaca de 104 × 12,7. Movimentos respiratórios, 32/minuto. Fígado e baço impalpáveis.

No 2.º dia de internamento a temperatura tornou-se normal e se manteve até o óbito. Acentuou-se a icterícia, apareceu herpes labial e surgiram hematemeses, melena e enterorragia. (Fig. 1 e 2). Queixava-se constantemente de dores nos membros inferiores, principalmente nas pantorrilhas.

Foram feitos os seguintes exames:

### Sangue

Série vermelha	
Eritrócitos/mm <sup>3</sup>	3 510 000
Hemoglobina (g/100 ml)	8,4
Eritrossedimentação	
(mm-1.ª hora-Wintrobe)	56

	<i>mg/100 ml</i>	
Taxa de uréia	260	
Taxa de creatina	7,7	
Colesterol		
Total	135	
Esterificado	126	
Livre	9	
Bilirrubinas		
Total	36	
Direta	12	
Indireta	24	
	<i>g/100 ml</i>	
Proteínas totais	5,5	
Albuminas	3,5	
Globulinas	2,0	
Provas	<i>Unidades</i>	
Timol	20	
Sulfato de amônio	10	
Kunkel	8	
Cefalina-colesterol	9	

O tratamento foi feito à base de Ledermina na dose de 900 mg diários. Medicação auxiliar com soro glico-fisiológico, Sinkavit, Vitamina C.

Estêve sob os cuidados do Dr. Frederico Martins no Hospital da P.M.P.

### *Necrópsia*

(Cadáver remetido pelo Hospital da Polícia Militar de Pernambuco)

Cadáver do sexo masculino, pardo, com 23 anos de idade, apresenta pele e mucosas intensamente coradas de amarelo (icterícia). Musculatura e panículo adiposo bem desenvolvidos. Genitais externos sem anormalidades. Olhos com conjuntivas coradas de amarelo. Bôca sem anormalidades. Cavidades pleurais livres de líquido e aderências. Pulmão esquerdo pesando 600 g, direito, 750 g. Superfície pleural lisa de cor castanho-arroxeadada com tonalidade amarela e arestas de sususão sangüínea; hilo apresenta brônquio dando líquido espumoso amarelo intenso. Ao corte, o parênquima apresenta cor castanho-arroxeadada, consistência aumentada, pouco arejado, dando líquido espumoso amarelado, à expressão.

*Coração* — Pesa 310 g, livre no saco pericárdico o qual contém líquido amarelo in-

tenso e límpido. Epicárdio com tonalidade amarela, liso. Ao corte mostra endocárdio intensament amarelo.

*Cavidade abdominal:* ausência de líquido e aderências.

*Fígado* — Pesa 2,100 g superfície lisa, cor castanho-amarelado, com áreas de sufusão hemorrágica. Vesícula bem implantada, contém bilis fluida amarela, canais cístico e colédoco são permeáveis. Ao corte, o parênquima apresenta coloração castanha com tonalidade amarela e sufusão sangüínea.

*Baço* — Pesa 110 g, cápsula lisa, brilhante, congesta; ao corte, o parênquima apresenta coloração castanho-arroxeadada intensa.

*Pâncreas* — Pesando 120 g. Aspecto acinoso com áreas de sufusão sangüínea.

*Rins* — Pesa o direito, 210 g e o esquerdo, 250 g. Cápsula lisa, descapsulando-se com facilidade, deixando a superfície de cor castanha com pontos hemorrágicos.

Ao corte, as duas camadas são bem distintas e mostram pontos hemorrágicos; pelvis renal apresenta cor amarelada intensa. Ureteres sem anormalidades. Bexiga contendo urina amarelada.

*Esôfago* — Sem anormalidade aparente.

*Estômago* — Contendo 20 ml de líquido hemático de cor negra e mucosa apresenta congestão e áreas hemorrágicas.

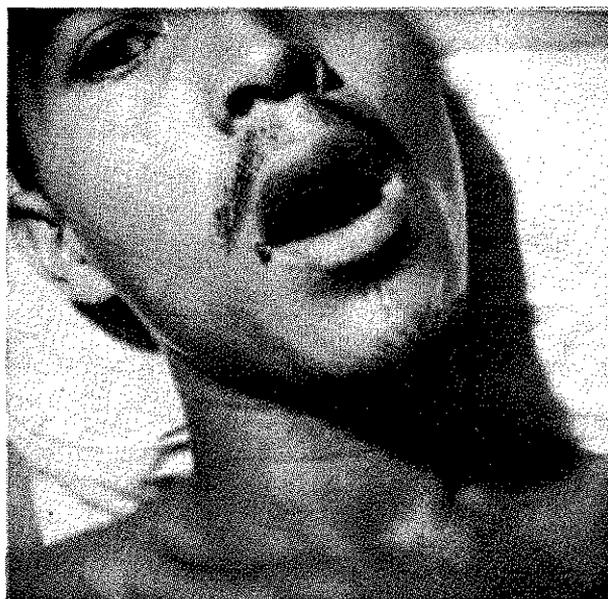
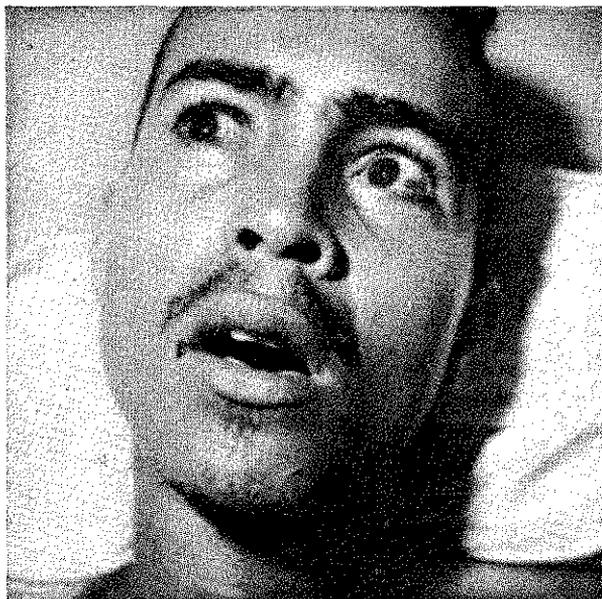
*Intestinos* — Delgado e grosso, mostra áreas hemorrágicas na mucosa e fezes pastosas e negras.

*Sistema nervoso central* — Cérebro pesa 1,340 g. Dura-máter de cor amarela intensa. Congestão capilar de cor amarela intensa. Congestão capilar da superfície e líquido céfalorraquiano amarelo intenso.

### *Diagnóstico macroscópico*

Leptospirose (Clínico-laboratorial)

Icterícia intensa da pele, mucosa, tecido celular subcutâneo, endocárdio, meninges. Congestão e hemorragia pulmonar. Edema pul-



Figuras 1 e 2 — Observação n.º 149.

monar. Congestão e hemorragia da mucosa do estômago e intestinos; idem, petequial dos rins, idem, do fígado. Congestão do bago.

(ass. Dr. Aggeu Magalhães Filho)

#### TRATAMENTO

De acôrdo com GSELL,<sup>9</sup> (1966), a experiência provou que para o tratamento eficaz das leptospiroses devem ser utilizadas doses elevadas de penicilina, mais de dois milhões de unidades por dia durante cinco a seis dias no mínimo; mostrou ainda que quanto mais precoce o início do tratamento, melhor o resultado obtido. Por conseguinte, o tratamento para ser eficaz deve ser precoce e maciço.

Para o tratamento precoce (1.º ao 4.º dia de doença) Gsell recomenda pelo menos 2 400 000 unidades de penicilina por dia; quando o quadro clínico é assaz grave ou quando o tratamento só pode ser iniciado no 4.º dia ou mais tarde, deve-se administrar de 6 a 10 milhões de unidades no primeiro dia, continuando com 4 milhões diariamente. Gsell salienta ainda que a terapêutica antibiótica intensa e precoce (1.º ao 3.º dia) elimina as leptospiroses antes que se inicie uma reação imunológica orgânica intensiva, razão pela qual a taxa das sôro-aglutininas permanece nula ou baixa (títulos de 1:200 ou menos).

Tomando conhecimento, através de Veronesi, do emprêgo da dimetiltetraciclina (Ledermicina), passamos a empregá-la como terapêutica de rotina em apreciável parcela dos casos. Processando-se a eliminação dessa tetraciclina através do parênquima renal, achamos de boa conveniência o seu uso, levando-se ainda em conta o fato de ser medicação por via oral.

Nos casos mais graves empregamos a dose de uma cápsula de 300 mg, de 8 em 8 horas e depois, com a involução do caso, utilizamos a dose de uma cápsula de 12 em 12 horas. Nos casos de média gravidade, a dose habitual foi de uma cápsula de 12 em 12 horas.

Quando os pacientes não podiam deglutir, empregávamos a medicação parenteral, ora com penicilina ora com tetraciclina.

Alguns doentes tiveram a flora intestinal comprometida pela tetraciclina, apesar de fazermos uso de complexo B.

Os acidentes constaram de glossite e diarreia e, em alguns casos, observamos intolerância gástrica, traduzidas clinicamente por náuseas e vômitos.

Ao lado da medicação específica, usamos compostos de vitaminas com sais minerais e, para combater os sintomas hemorrágicos, usamos vitamina K e Stiptanose.

Apenas um paciente não atendeu a essa medicação anti-hemorrágica, por isto lançamos mão do Ipsilon endovenoso, com ótimos resultados.

Para dominar a insônia, usamos o Gardenal com boa tolerância e sem efeitos secundários.

Um setor que necessita muito cuidado é a alimentação do paciente e nesse campo tivemos a valiosa colaboração do nosso serviço de nutrição.

Sempre que possível a hidratação dos pacientes era feita com água mineral, suco de frutas e água de côco verde e, como este último é abundante em nosso hospital, obtivemos ótimos resultados através de sua ação diurética.

#### RESUMO

Os autores descreveram o surto de leptospirose ocorrido em Recife, Pernambuco, Brasil durante os meses de junho e julho de 1966, após as enchentes que inundaram aquela cidade.

Foram referidos cento e oitenta e um casos, dos quais cento e oitenta foram confirmados pela sôro-aglutinação realizada no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo. Outro caso foi confirmado pela necrópsia.

A leptospira dominante foi a *L. icterohaemorrhagiae*, responsável por cento e setenta casos; as demais foram a *L. australis* com cinco casos, a *L. pomona* com três casos e a *L. andamana* com dois casos.

Os sintomas observados foram descritos e discriminada a freqüência de cada um deles; houve casos anictéricos, e a mortalidade foi 3,3%. Além da penicilina em doses maciças, foi utilizada a dimetiltetraciclina com bons resultados.

AZEVEDO, R. & CORREA, M. O. A. — Considerações em torno da epidemia de leptospiroses na cidade de Recife em 1966. Aspectos epidemiológicos, laboratoriais e clínicos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 28:85-111, 1968.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AREAN, V. M. — The pathologic anatomy and pathogenesis of fatal human leptospiroses (Weil's disease). *Am. J. Path.* 40:393-423, 1962.
2. BRITO, T.; PENNA, D. O.; SANTOS, H.; FREYMÜLLER, E.; ALMEIDA, S. S.; GALVÃO, P. A. A. & PEREIRA, V. G. — Electron microscopy of human leptospirosis (kidney biopsies). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 14:397-403, 1965.
3. COSTA, B.; FAILLACE, J. M.; CUNHA, C. V.; SILVA, N. N.; CLAUSELL, D. T.; CHAVES, A. & MEDINA, H. — "Estudo de uma epidemiologia de espiroquetose ictero-hemorrágica em Porto Alegre". *Arq. Dep. Est. Saúde, R. G. Sul* 3:7-35, 1942.
4. CUADRA, M.; CONTRERAS, G. & DAVILA, E. — Las transaminasas en la Enfermedad de Weil (Estudio clínico y experimental). In: *Int. Congr. Trop. Med. Malar. 7th. Rio de Janeiro, 1963. v. 3, p. 84-7. Proceedings.*
5. ELKIS, H.; ROZENBOJN, J.; AMATO NETO, V.; KURBAN, S. T. & MEIRA, J. A. — Valor da determinação da mucoproteína sérica no diagnóstico diferencial entre leptospirose e hepatite por virus. *Hospital* 54(4):149-153, 1958.
6. ELKIS, M.; AMATO NETO, V. & MEIRA, J. A. — Transaminase glutâmico-oxalacética no soro de pacientes com leptospirose. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo* 4:217-9, 1962.
7. FIALHO, A. — Sobre dois casos de Doença de Weil no Rio de Janeiro. Contribuição ao seu diagnóstico diferencial. *Arch. Hig., Rio de Janeiro* 8:36-57, 1939.
8. GALVÃO, S. V. — Dicionário chorográfico histórico e estatístico de Pernambuco. Rio de Janeiro, Impr. Nacional, 1921.
9. GSELL, O. — Le traitement des leptospiroses. *Annls. Soc. Belg. Med. Trop.* 46(2): 203-10, 1966.
10. LA DUE — Apud <sup>20</sup>.
11. MAGALHÃES, A. G. — Contribuição ao estudo da Espirochetose Icterohemorrágica. Tese. Rio de Janeiro, Impr. Carmo, 1920.
12. MARTIRANI, I.; HÖXTER, B. S.; WAJCHENBERG, B. L.; MARIANI, I. & CINTRA, A. B. — Determination of polysaccharide hexoses and hexosamines in normal human sera. *J. Lab. Clin. Med.* 54 (5):773-8, 1959.
13. MEIRA, D. A.; WAINMAN, J. T.; PILEGGI, F.; SALLES, J. C. E.; MEIRA, J. A. & DECOURT, L. V. — Comprometimento miocárdico na leptospirose. Estudo eletrocardiográfico e anátomo-patológico. *Arq. Bras. Cardiol.* 18:177-94, 1965.
14. MIRANDA, R. N. — Doença de Weil no Paraná. *Rev. Med. Paraná* 15(6):229-34, 1946.
15. MONTEVERDE, A. & FUMAGALLI, E. — Il comportamento delle transaminasi G. O. T. e G. P. T. nelle leptospirosi. *Minerva Med., Roma* 50:2600-4, 1959.
16. OLIVEIRA, W. — Geologia da planície do Recife. Contribuição ao seu estudo. Tese. Recife, *Jornal do Comércio*, 1942.
17. PARAHYM, O. — Homens e ratos. Diário de Pernambuco, Recife, 26 jul. 1967.
18. PENNA, D.; BRITO, T.; PUPO, A. A.; MACHADO, M. M.; GALVÃO, P. A. A. & ALMEIDA, S. S. — Kidney biopsy in human leptospirosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 12:896-901, 1963.
19. RAZDAN, A. W.; BHARGAWA, K. S. & RAI, P. C. — Transaminase levels in bowel necrosis. *Indian J. Med. Sci.* 18:445-6, 1964.
20. SILVA, A. B. — Valor semiológico da dosagem de algumas enzimas no sangue. *Rev. Med. Est. Guanabara* 33(3):162-72, 1966.
21. TARTARI, J. T. A.; WAJCHENBERG, B.; VERONESI, R.; BIEHMER, D.; MEIRA, J. A. & CINTRA, A. B. U. — Pancreatite aguda na leptospirose ictero-hemorrágica. *Rev. Cirurg. S. Paulo* 13:37-54, 1953.
22. TESTUT, J. — *Traité d'anatomie humaine.* Paris, Octave Doin, 1922. v. 3. p. 441.

Recebido para publicação em 3 de dezembro de 1968.



## NOTICIÁRIO

### 1.º SEMINÁRIO SÔBRE PESTICIDAS

Com a presença de técnicos do Ministério da Saúde, do Ministério da Agricultura, da Secretaria da Saúde do Estado da Guanabara e das Secretarias da Saúde e da Agricultura do Estado de São Paulo, realizou-se no período de 8 a 10 de janeiro do corrente ano, na cidade de São Paulo, o Primeiro Seminário sôbre Pesticidas, a fim de tratar dos defensivos agropecuários, principalmente quanto aos problemas relacionados com a defesa da saúde das pessoas que manipulam e aplicam êsses produtos, bem como com a defesa da população em geral que ingere alimentos que podem estar, direta ou indiretamente, contaminados com resíduos dêsses pesticidas.

Este Seminário, organizado pelo Instituto Adolfo Lutz, foi realizado nas dependências dêste estabelecimento e do Instituto Biológico de São Paulo.

Na Sessão Inagural, aberta pelo Dr. Augusto de Escragnoille Taunay, Diretor Geral do Instituto Adolfo Lutz, falou o Dr. John Yates, Diretor Internacional do Projeto das Nações Unidas sôbre a Expansão dos Trabalhos sôbre Pesticidas no Instituto Biológico que, nessa oportunidade, expôs as bases dêsse projeto, supervisionado pela FAO, destacando também a sua extensão em âmbito nacional.

Para dirigir os trabalhos do I Seminário sôbre Pesticidas foram eleitos, como Presidente, o Dr. Waldemar Ferreira de Almeida, do Instituto Biológico de São Paulo e membro da Comissão de Peritos sôbre Resíduos de Pesticidas da Organização Mundial de Saúde, e como Secretário, o Dr. Luiz Piragibe, do Laboratório Bromatológico Dr. Francisco Albuquerque, do Estado da Guanabara.

#### TEMAS E RECOMENDAÇÕES

TEMA I — *Medidas de ordem administrativa visando regulamentar o licenciamento e o emprêgo de defensivos agropecuários.*

TEMA II — *Medidas de ordem administrativa visando regulamentar o transporte, o armazenamento e a comercialização de defensivos agropecuários ou outros pesticidas altamente tóxicos.*

Coordenador — Dr. Clovis Deruiz Beduin, do Serviço de Defesa Sanitária Vegetal, do Ministério da Agricultura.

#### RECOMENDAÇÕES

1. Adotar os seguintes princípios de ordem administrativa, visando regulamentar o emprêgo e o licenciamento de produtos agropecuários cujos resíduos possam contaminar alimentos.

a) Nenhum defensivo agrícola poderá ser licenciado pelo órgão competente do Ministério da Agricultura sem a prévia inclusão nas listas aprovadas pela Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA).

b) Ao incluir um defensivo agrícola nas listas que vierem a ser aprovadas, a CNNPA ouvirá, previamente, os órgãos técnicos específicos que apreciarão o pedido de inclusão sôbre o ponto de vista técnico, econômico e sanitário.

c) O pedido de inclusão e licenciamento de um novo defensivo agrícola será obrigatoriamente documentado com literatura técnico-científica idônea versando sôbre: os ensaios de toxicidade aguda, sub-aguda e crônica; a remanescência do produto e seus metabolitos em alimentos destinados ao consumo humano ou em rações para animais destinados ao consumo humano; processo químico de ensaio da substância pura, das preparações em que será empregado e métodos para a identificação e dosagem do resíduo remanescente no alimento.

2. Aprovar a recomendação feita pelo Instituto Biológico de São Paulo quanto aos requisitos de ordem toxicológica necessários para o estabelecimento de tolerâncias de resíduos de pesticidas em alimentos.

3. Recomendar à Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA) a constituição, no prazo máximo de 90 dias, de um grupo de trabalho integrado por especialistas por ela indicados e por representantes das seguintes instituições e repartições: Departamento Nacional de Saúde, Serviço de Defesa Sanitária Vegetal, Serviço de Defesa Sanitária Animal, Departamento Nacional de Endemias Rurais, Instituto Biológico de São Paulo, Serviço de Higiene e Medicina do Trabalho e do Sindicato da Indústria de Defensivos Agropecuários para estudarem em profundidade as medidas necessárias ao perfeito entrosamento das atividades dos órgãos interessados no licenciamento e emprêgo de defensivos agrícolas nos seus aspectos técnico, econômico e sanitário.

4. Aprovar a inclusão nas Normas Especiais sobre a produção, comercialização e emprêgo de defensivos agrícolas cujos resíduos possam contaminar alimentos, das definições abaixo indicadas, sem prejuízo de outras que possam a vir a ser sugeridas pelo grupo de trabalho acima recomendado:

a) *Defensivo Agropecuário* — é a substância ou mistura de substâncias, de natureza química ou biológica, destinadas a prevenir, destruir, repelir, direta ou indiretamente, insetos, fungos, ervas daninhas, nematóides, ácaros, vírus, bactérias e outras formas de vida animal ou vegetal, prejudiciais à lavoura, à agropecuária e seus produtos.

b) *Resíduo de Defensivo Agropecuário* — é o resíduo remanescente no ou sobre o alimento e decorrente do emprêgo de substância química ou biológica no controle de pragas e doenças, ou derivados de tais substâncias e expresso em partes por pêso da substância química ou biológica e seus derivados, por milhão de partes por pêso do alimento (p.p.m.).

c) *Resíduo Negligenciável* — é uma quantidade de resíduo de defensivo agropecuário considerado toxicologicamente insignificante.

d) *Resíduo não intencional* — é o que ocorre no alimento como resultado de contaminação, sem que o pesticida tenha sido aplicado intencionalmente na cultura ou no animal em questão.

e) *Dose diária aceitável* — é a ingestão diária que, durante a vida inteira, parece não oferecer risco apreciável, à luz dos conhecimentos atuais e é expressa em mg da substância química ou biológica por kg de pêso corpóreo (mg/kg).

f) *Dose diária aceitável provisória* — é aquela tolerada por um período limitado, cuja fixação tem por objetivo permitir a obtenção de dados bioquímicos, toxicológicos e outros, que possibilitem estabelecer a “dose diária aceitável”.

g) *Tolerância residual* — é a concentração máxima de resíduo de defensivo agropecuário permitida no ou sobre o alimento, numa fase específica da colheita, estocagem, transporte, venda ou preparação do alimento, antes do consumo final e é expressa em partes de pêso do defensivo agropecuário residual por milhão de partes em pêso do alimento (p.p.m.).

h) *Tolerância residual provisória* — é aquela válida durante um período de tempo limitado. É estabelecida quando: a) o pesticida possui “Dose Diária Aceitável Provisória”; b) a ingestão diária do resíduo do pesticida nos vários alimentos parece exceder a “dose diária aceitável” por ter sido calculada a partir de tolerâncias estabelecidas para um estágio anterior ao consumo, sem informações sobre a degradação posterior do pesticida.

i) *Uso adequado* — é o emprêgo recomendado de um defensivo agropecuário, necessário e essencial para o controle de uma praga ou doença sob determinadas condições práticas, considerados sempre os riscos toxicológicos envolvidos.

j) *Estudo sobre dieta total* — é o estudo efetuado para verificar o comportamento do defensivo agropecuário ingerido por uma pessoa consumindo uma dieta típica.

k) *Amostra subjetiva* — é aquela tomada após o emprêgo conhecido ou suspeitado de um defensivo agropecuário numa cultura.

l) *Amostra objetiva* — é a amostra representativa tomada ao acaso ou uma amostra imparcial.

5. Encaminhar à CNNPA, como subsídios para o Grupo de Trabalho acima recomendado, as contribuições apresentadas pelo representante da CNNPA (Dr. Luiz Piragibe) e pelo representante do Instituto Adolfo Lutz (Dra. Maria Elisa W. de Almeida).

6. Recomendar o mais perfeito entrosamento entre os órgãos específicos do Ministério da Agricultura (SDSV e SDSA) com os órgãos competentes estaduais, com vistas a evitar dualidade de critério de especificações de qualidade e de normas de análise para registro de defensivos agropecuários, as quais devem obedecer, tanto quanto possível as normas baixadas pelo órgão federal competente, sem prejuízo da ação estadual complementar ou supletiva.

7. Recomendar a adoção das sugestões apresentadas pelo Instituto Biológico de São Paulo quanto às normas de análise e especificações de qualidade dos defensivos agropecuários.

### TEMA III — *Resíduos de Pesticidas em Alimentos*

*Coordenador* — Dra. Maria Elisa Wohlers de Almeida, do Instituto Adolfo Lutz.

#### RECOMENDAÇÕES

a) Aprovar a Tabela apresentada pelos Técnicos do Instituto Adolfo Lutz e do Instituto Biológico, recomendando a sua remessa, com as sugestões apresentadas e com os complementos sugeridos à CNNPA, a qual competirá ouvir o Serviço de Defesa Sanitária Vegetal e o Serviço de Defesa Sanitária Animal e, através dos representantes da Indústria na CNNPA, as empresas interessadas.

b) Recomendar ao órgão competente do Ministério da Saúde, que seja intensificada a realização de inquéritos alimentares, co-

mo solicitados pela Organização de Alimentação e Agricultura das Nações Unidas (F.A.O.) para coleta de dados sobre consumo individual e diário de alimentos no Brasil, com vistas a fixar, para cada defensivo agropecuário em cada alimento, as tolerâncias residuais, na forma da definição aprovada por este Seminário.

### TEMA IV — *Medidas para assegurar a defesa da saúde dos manipuladores de defensivos agrícolas*

*Coordenador* — Dr. Augusto Pinto Pereira, do Instituto Biológico de São Paulo.

#### RECOMENDAÇÕES

a) Recomendar a mais ampla divulgação da pesquisa desenvolvida no Instituto Biológico de São Paulo, quanto à ocorrência de intoxicações com os operadores e manipuladores de defensivos agropecuários.

b) Recomendar que essa pesquisa seja levada ao conhecimento das autoridades competentes do Ministério da Saúde e do Ministério do Trabalho, encarecendo-se a necessidade de serem adotadas medidas visando garantir a segurança de operadores e manipuladores de defensivos agropecuários.

c) Recomendar à Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) a necessidade de serem normalizados os equipamentos de segurança destinados a operadores e manipuladores de defensivos agropecuários.

d) Recomendar aos órgãos ministeriais interessados no problema dos defensivos agropecuários a necessidade do fornecimento obrigatório, por parte dos fabricantes de equipamento, das instruções de emprêgo e manutenção de tais equipamentos.

### TEMA V — *Interações dos organismos ligados à saúde pública e à agricultura quanto às medidas administrativas para prevenir a ocorrência de intoxicações por pesticidas.*

*Coordenador* — Dr. Ialmo de Moraes, do Departamento Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde.

#### RECOMENDAÇÕES

Recomendar ao Ministério da Saúde que entre em entendimentos com outros órgãos ministeriais, secretarias estaduais e as entidades representativas das empresas interessadas no fabrico, comercialização, transporte e aplicação de defensivos agrícolas, no sentido da criação de uma Comissão Permanente de Defensivos Agropecuários, como órgão consultivo das entidades interessadas.

#### TEMA VI — *Pesticidas usados em pecuária*

*Coordenador* — Dr. Fernando Braga Ubatuba, do Serviço de Defesa Sanitária Animal, do Ministério da Agricultura.

#### RECOMENDAÇÕES

a) Recomendar o reestudo da Tabela de Defensivos agropecuários a fim de melhor avaliar os limites residuais em produtos de origem animal.

b) Recomendar à Equipe Técnica de Defesa Sanitária Animal o estudo da proibição de licenciamento de produtos que contenham pesticidas organoclorados, empregados no tratamento de animais cuja carne e outros produtos e sub-produtos sejam destinados à alimentação humana ou animal.

c) Recomendar que seja convocado, no mais curto prazo possível, um seminário para o estudo da remanescência em alimentos de antibióticos, hormônios e outras substâncias químicas e biológicas empregadas nas fases de criação e abate de animais destinados ao consumo humano, bem como o estudo das micotoxinas remanescentes em alimentos.

#### TEMA VII — *Contrôle de resíduos de pesticidas em forragens e rações.*

*Coordenador* — Dr. Pedro Pigatti, do Instituto Biológico de S. Paulo.

#### RECOMENDAÇÕES

a) Incorporar à Tabela elaborada pelo Grupo de Trabalho do Instituto Adolfo Lutz e Instituto Biológico os limites residuais para pesticidas em forragens e feno, constantes dos dados apresentados pelo Dr. Pedro Pigatti do Instituto Biológico de São Paulo.

b) Recomendar o estudo das condições de controle das rações, a fim de fixar o critério de julgamento do limite residual a ser proposto para as forragens, grãos e outros componentes de ração, principalmente considerando a ação sinérgica dos defensivos agropecuários e o tipo de formulação sob o qual o defensivo agropecuário é aplicado.

c) Recomendar o estudo de antibióticos, hormônios e quimioterápicos em geral incorporados às rações e o estudo da remanescência de micotoxinas em rações para animais.

TEMAS LIVRES — Expuzeram vários técnicos do Instituto Biológico, abordando problemas de *Formulações de pesticidas* (Dra. Christine Rosenfeld, técnica da FAO, junto ao Instituto Biológico); *Análises de pesticidas* (Dr. Renato Piedade); *Influência das condições de clima sobre a persistência de alguns inseticidas fosforados em alimentos* (Dra. Antonieta Pigatti) e *Metabolismo de alguns pesticidas nas culturas* (Dr. Pedro Pigatti).