



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO  
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE  
COORDENADORIA DOS SERVIÇOS TÉCNICOS ESPECIALIZADOS  
**INSTITUTO ADOLFO LUTZ**  
SÃO PAULO, SP - BRASIL

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

ISSN 0073 - 9855

RIALA6

VOLUME 43

NÚMERO 1/2

JUN./DEZ., 1983



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO  
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE  
COORDENADORIA DOS SERVIÇOS TÉCNICOS ESPECIALIZADOS  
**INSTITUTO ADOLFO LUTZ**  
SÃO PAULO, SP - BRASIL

## REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

---

### REDATOR RESPONSÁVEL

WALDOMIRO PREGNOLATTO  
*Diretor do Instituto Adolfo Lutz*

### COMISSÃO DE REDAÇÃO

MARCELO OSWALDO ALVARES CORRÊA, *Presidente*  
ELZA SCHWARZ GASTALDO BADOLATO  
LUÍS FLORENCIO DE SALLES GOMES  
MYRNA SABINO  
NEUS PASCUET PREGNOLATTO  
ODAIR ZENEBO  
PEDRO PAULO CHIEFFI  
ROBERTO A. PINTO PAES  
SARA TETNER BURSTEIN, *Secretária*

### REDATOR-SECRETÁRIO

DEBORA DOMINGUES ESTRELLA REBOCHO

---

Endereço/Address

Biblioteca do Instituto Adolfo Lutz  
Av. Dr. Arnaldo, 355 — Caixa Postal 7027  
01000 — São Paulo, SP — Brasil  
Endereço telegráfico: IALUTZ

Publicação semestral/*Bi-annual publication*  
Solicita-se permuta/*Exchange desired*

(\*)

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. (Secretaria de Estado  
da Saúde) São Paulo, SP — Brasil, 1941 —

1941-1982, 1-42  
1983, 43 (1/2)

ISSN 0073-9855  
RIALA6

CDD<sub>18</sub> 614.07205

(\*) ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE BIBLIOTECÁRIOS. Grupo de Bibliotecários Biomédicos. *Normas para catalogação de publicações seriadas nas bibliotecas especializadas*. São Paulo, Ed. Polígono, 1972.

Os artigos publicados na REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ são indexados por Analytical Abstracts, Bibliografia Brasileira de Medicina, Bibliografia Brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia, Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Excerpta Medica, Food Science and Technology Abstracts, Index Medicus Latino-americano, Tropical Diseases Bulletin e Virology Abstracts.

# REVISTA

DO

## INSTITUTO

### ADOLFO LUTZ

---

*Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):1-113, jun/dez. 1983.

---

#### SUMARIO/CONTENTS

- 551 Luís Satyro de Salles Gomes, necrológio  
*Luís Satyro de Salles Gomes, necrology*  
 Marcelo Oswaldo Álvares CORRÊA ..... 1-2
- 552 Determinação quantitativa das principais substâncias utilizadas para fraudar o café torrado e moído  
*Quantitative determination of the substances more frequently employed in frauding ground roasted coffee*  
 Fernando Cerviño LOPEZ ..... 3-8
- 553 Determinação do teor de suco de maracujá em produtos industrializados  
*Chemical determination of passion-fruit juice of industrial products*  
 Emiko Ikejiri INOMATA; Myrna SABINO; Waldomiro FREGNOLATTO & Sylvia CONCILLIO ..... 9 -14
- 554 Aspectos da contaminação por cádmio em produtos do mar coletados no Estuário de Santos, Baía da Guanabara e Baía de Todos os Santos  
*Cadmium as a contaminant of sea foods from the bays of Santos, Rio de Janeiro and Todos os Santos, in Brazil*  
 Myrian de TOLEDO; Alice Momoyo SAKUMA & Waldomiro PREGNOLATTO ..... 15-24
- 555 Efeitos do jejum e da temperatura em laboratório na infectividade de triatomíneos por *Trypanosoma cruzi*  
*Effects of fasting and laboratory temperature on the infectivity of Triatoma infestans infected with Trypanosoma cruzi*  
 José Eduardo TOLEZANO; Maria de Fátima Leren de ARAÚJO; Suzel Scalon RIBEIRO & Maria Márcia Imenes ISHIDA ..... 25-32
- 556 Determinação de ácido erúxico em mostarda de mesa  
*Determination of erucic acid in prepared mustards*  
 Franca DURANTE; Elza Schwarz Gastaldo BADOLATO & Maria Elisa Wohlers de ALMEIDA ..... 33-40
- 557 Análise de qualidade e sugestão de norma para análise de chupetas, mordedores e outros artigos de uso infantil  
*Quality control of some articles for baby use; suggestion of a norm*  
 Neusa Santesso GARRIDO; Neus Pascuet PREGNOLATTO & Lúcia Tiego Fukushima MURATA ..... 41-46

558	Hemoparasitas de quirópteros e marsupiais capturados no Estado de São Paulo, Brasil <i>Blood parasites in Chiroptera and Marsupialia trapped in São Paulo State, Brazil</i> Domingas M. A. G. Vieira TORRES; Rosa Maria D. Souza DIAS; Pedro Paulo CHIEFFI; José Eduardo TOLEZANO & Adélia H. NAGAMORI .....	47-53
559	Infecções por enterovírus em recém-nascidos em ambiente hospitalar <i>Enterovirus infections in newborns from a general hospital</i> Eliseu Alves WALDMAN; Rudolf Uri HUTZLER & José Paulo Gonzaga de LACERDA .....	55-68
560	Fraudes da pimenta do reino preta ( <i>Piper nigrum</i> ) moída <i>Frauds in ground black pepper (Piper nigrum)</i> Neusa Vitória Valério SILVEIRA; Claydes de Quadros ZAMBONI & Mickiko Y. TAKASHI .....	69-79
561	Utilização da cultura de células de rim de Hamster para o isolamento do vírus da caxumba (parotidite epidêmica) <i>Cultures of Hamster kidney cells in the isolation of mumps virus</i> Sueko TAKIMOTO; Mário Monteiro de MESSAS; Terezinha Maria de PAIVA; Clélia Helena Oliveira MARTINEZ; Tuneo ISHIMARU & Elza Miyashiki MAKITA .....	81-84
562	Síndrome de larva migrans visceral em adulto. Apresentação de um caso <i>Visceral larva migrans in adult patient. Report of a case</i> Carlos Sérgio CHIATTONE; Pedro Paulo CHIEFFI & Roberto A. Pinto PAES .....	85-88
563	<i>Salmonella typhimurium</i> , fermentadora tardia da lactose <i>Study of late fermentation of lactose by strains of Salmonella typhimurium</i> Gil Vital Alvares PESSÔA; Chifumi Takeuchi CALZADA; Kinue IRINO; Suzel Nogueira NEME; Elena Kano; Ângela Maria Girardi DIAS & Maria Cristina de Cunto BRANDILEONE .....	89-95
564	Ocorrência de infecções entéricas múltiplas por enterobactérias patogênicas, no município de São Paulo, no sexênio 1977-1982 <i>Occurrence of multiple enteric infections by pathogenic enterobacteria in São Paulo County from 1977 to 1982</i> Gil Vital Alvares PESSÔA; Kinue IRINO; Chifumi Takeuchi CALZADA; Elena KANO; Ângela Maria Girardi DIAS; Suzel Nogueira NEME; Vera SIMONSEN & Tânia Mara Ibelli VAZ .....	97-103
565	Identificação e lisotipagem de amostras de <i>Salmonella paratyphi</i> A, causadora de surto epidêmico em Tucuruí, Pará, Brasil <i>Identification and lysotyping of strains of Salmonella paratyphi A responsible for the outbreak of Tucuruí, Pará, Brazil, in 1980</i> Gil Vital Alvares PESSÔA; Léa Constante LINS; Chifumi Takeuchi CALZADA; Kinue IRINO; Suzel Nogueira NEME; Mathilde RASKIN & Edna Talarico RODRIGUES .....	105-107
	INDICE DE AUTOR/AUTOR INDEX .....	109
	INDICE DE ASSUNTO .....	111
	SUBJECT INDEX .....	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.

Os artigos destinados à Revista somente serão recebidos se redigidos de acordo com as seguintes normas:

### NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

Os originais deverão ser redigidos na ortografia oficial, apresentados em duas vias (original e primeira cópia), datilografados com duplo entrelinhamento em folhas de papel tamanho ofício, com margens de 3 cm de cada um dos lados, numeradas com algarismos arábicos no ângulo superior direito. Evitar dividir as palavras no fim da linha, mesmo que a margem fique irregular, e nunca usar com este propósito barras ou outros sinais tipográficos para encher o espaço. No caso de ser utilizada máquina elétrica, usar a esfera de caracteres tipo redondo para todo o texto, reservando a esfera tipo itálico para palavras latinas ou de língua estrangeira.

No preparo do original, será observada, sempre que possível, a seguinte estrutura:

#### *Página de rosto*

Título do artigo  
Nome do(s) autor(es)  
Filiação científica

#### *Texto*

Introdução  
Material e Métodos  
Resultados  
Discussão  
Conclusões  
Agradecimentos (se for o caso)

#### *Material de referência*

Resumos (em português e em inglês)  
Descritores  
Referências bibliográficas

**TÍTULO** — Deverá ser curto e específico, indicando precisamente o conteúdo do artigo; no caso de ser necessário título longo, recorrer a subtítulo.

**ABREVIATURAS** — Não serão empregadas nos títulos ou nos resumos. No texto serão evitadas ou usadas apenas as oficiais, já consagradas.

**UNIDADES DE MEDIDA E SEUS SÍMBOLOS** — Deverão ser usadas somente as unidades legais de medir do sistema nacional de metrologia, definidas em decreto (BRASIL. Leis, decretos, etc. Decreto n. 81.621 de 3 de maio de 1978. *Diário Oficial*, Brasília, 4 mai. 1978. Seção 1, pt. 1, p. 6281-86).

**TABELAS** — Serão numeradas consecutivamente, com números arábicos e encabeçadas pelo respectivo título, que deverá indicar claramente o conteúdo. Os dados apresentados em tabela não deverão ser repetidos em gráfico, a não ser em casos especiais. Na montagem das tabelas, seguir as normas brasileiras para apresentação tabular (FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA — *Normas de apresentação tabular*. Rio de Janeiro, IBGE, 1979, 22 p.).

Na ausência de um dado numérico, emprega-se um dos seguintes sinais convencionais:

—	quando, pela natureza do fenômeno, não puder existir o dado;
Z	quando o dado for rigorosamente zero;
...	quando não se dispuser do dado;
0	} quando a aplicação dos critérios de arredondamento não permitir alcançar, respectivamente, os valores 1; 0,1; 0,01 etc.;
0,0	
0,00	
0,00	
X	quando o dado for omitido para evitar a individualização da informação.

**ILUSTRAÇÕES** (fotografias, gráficos, desenhos, mapas etc.) — Serão designadas no texto como "figuras"; terão numeração única e seguida, em algarismos arábicos.

Todas as ilustrações deverão ser identificadas com: número, nome do autor, título do artigo e número da página do texto onde serão inseridas; deverão ser tão claras que permitam sua reprodução com redução de até 6,5 cm no sentido da largura, sem perda de nitidez ou legibilidade; as respectivas legendas deverão estar escritas fora da área de reprodução.

Os gráficos, mapas, desenhos deverão ser feitos a nanquim preta, em papel vegetal, com lettras e números escritos com normógrafo.

As fotografias deverão ser nítidas e de bom contraste. No caso de diapositivos, estes deverão ser apresentados e não fotografias dos mesmos.

**RESUMOS** — Serão apresentados um em português, antecedendo o texto, outro em inglês (encabeçado pelo título do artigo), no final, antes das referências bibliográficas. Não deverão exceder 200 palavras. O estilo será claro e conciso, pondo em relevo, de forma precisa, os fatos observados e os elementos novos essenciais à conclusão. Serão redigidos pelo próprio autor ou com a colaboração deste, observando-se as recomendações da UNESCO (*Bol. UNESCO, Bibl.* 23:72-7, 1969). A fim de facilitar a indexação, o resumo deverá conter:

*Descritores* — São palavras ou expressões que identificam o conteúdo do artigo. Os três principais *descritores* serão escritos em primeiro lugar, por ordem de importância. Recomenda-se para a escolha dos descritores usar o vocabulário próprio do campo especializado.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS** — Deverão ser mencionadas somente as de trabalhos consultados diretamente ligados ao assunto.

*No texto* — Serão citadas por meio de número índice correspondente ao da lista de referências e escritas em versal; assim, para um autor: ... TAUNAY<sup>21</sup> verificou ...; para dois autores ... LEME & CARRIJO<sup>19</sup>, pesquisando ...; para mais de dois autores: ... No trabalho de TSUNODA *et alii*<sup>6</sup>; ou ainda ... segundo vários autores<sup>1, 2, 7, 8</sup>.

*Na lista de referências* — Terão numeração consecutiva e serão ordenadas alfabeticamente pelo último sobrenome do autor (regra geral), citando-se todos os autores do artigo.

Para artigos de periódicos

Último sobrenome do(s) autor(es) seguido das iniciais dos outros componentes do nome, título do artigo, título do periódico abreviado (*World list of scientific periodicals*, 4<sup>th</sup> ed. London, Butterworths, 963-65. 3 v.), em grifo, n.º do volume, n.º do fascículo (quando a numeração não for continuada), páginas inicial e final do artigo, data da publicação do volume ou fascículo.

Ex.:

MORENO, G.; LOPES, C. A. M.; BELLOUMINI, H. E.; PESSOA, G. V. A.; BIASI, P. & ANDRADE, J. C. R. — Enterobactérias isoladas de anfíbios e répteis. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 15:122-126, 1973.

Para livros

Último sobrenome do(s) autor(es) seguido das iniciais dos outros componentes do nome, título da obra, (em grifo), n.º da edição (se não for a primeira), local de publicação, editor (quando não coincidir com o autor), ano de publicação, n.º de páginas ou volumes (ou n.º da página consultada).

Ex.:

CANTAROW, A. & SHEPARTZ, B. — *Bioquímica*. 3.ª ed. Guanabara, Atheneu, 1968. p. 325.

## DA PUBLICAÇÃO

1. Os trabalhos destinados à publicação na *Revista do Instituto Adolfo Lutz* deverão ser encaminhados à Biblioteca do Instituto Adolfo Lutz.
2. A publicação de artigos na Revista está condicionada à aprovação da Comissão de Redação, que poderá sugerir ao autor alterações do original. Este original só será aceito quando tiver o visto da Comissão de Redação.
3. Todo trabalho entregue para publicação deverá ser assinado pelo autor e trazer endereço para correspondência. No caso de mais de um autor, deverá ser expressamente indicado o responsável pela publicação.
4. Os trabalhos serão publicados em ordem cronológica de recebimento, salvo o caso especial de *nota prévia*, que terá prioridade.
5. A data de recebimento do artigo constará obrigatoriamente no final do mesmo.
6. A primeira prova tipográfica será revisada pelo redator-secretário e conferida pelo autor, que a rubricará.
7. Os originais de trabalhos aceitos para publicação não serão devolvidos aos autores.
8. Os autores terão direito a 70 separatas; quando desejarem maior número, deverão entender-se com o redator-secretário da Revista.
9. É permitida a reprodução, no todo ou em parte, de artigos publicados na *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, desde que sejam indicados a origem e o nome do autor, na conformidade da legislação sobre Direitos Autorais.

## DA DISTRIBUIÇÃO

A *Revista do Instituto Adolfo Lutz* é distribuída gratuitamente a entidades governamentais, culturais, ou em permuta com periódicos nacionais e estrangeiros.





LUÍS SATYRO DE SALLES GOMES

16/6/1898      6/6/1983

Aos 16 de junho de 1898, Luís Satyro de Salles Gomes nasceu em Tatuí, Estado de São Paulo, filho do Dr. Francisco de Salles Gomes e de Anna Lilian Kenworthy de Salles Gomes. Foi casado com Ligia Moreira de Salles Gomes, falecida em 1968 e, em segundas núpcias, com Alwine Fester de Salles Gomes, falecida em 1982.

Fez o curso primário em Tatuí e o secundário no Colégio São José em Salvador, Bahia, colégio famoso de propriedade de seu tio, o educador João Florêncio Gomes. Ingressou na Faculdade de Medicina da Bahia que cursou até o 3.º ano, transferindo-se para a Faculdade Nacional de Medicina do Rio de Janeiro onde se formou em 1921. Defendeu tese de Doutorado em 1922 sobre: "Do valor da essência de *Chenopodium anthelminticum*, L. em Medicina e em Hygiene", na qual foi aprovado com distinção. Esta tese dedicada "à querida memória de meu irmão João Florêncio", notável pesquisador falecido precocemente, em 1919, vítima da "gripe espanhola", foi efetuada em sua quase totalidade no Instituto Butantan, onde trabalhava aquele irmão tão querido. Em maio de 1922 foi nomeado preparador efetivo (Assistente) da Cadeira de Microbiologia da Faculdade de Medicina e Cirurgia de São Paulo, sendo que, com o falecimento do Prof. Dr. Alexandrino Pedroso, o então responsável pela Cadeira, assumiu-a até fevereiro de 1926. Em 1928 foi contratado como Assistente Microbiologista da Inspetoria do Policiamento da Alimentação Pública, dependência da Diretoria do Serviço de Secretaria do Estado e, em 1931, a convite do Prof. Dr. José Pedro Carvalho Lima, foi nomeado Assistente Bacteriologista do Instituto Bacteriológico de São Paulo que posteriormente se transformou no Instituto Adolfo Lutz. Em 1940, foi escolhido e nomeado para o cargo de Chefe da Subdivisão de Microbiologia e Diagnóstico do Instituto Adolfo Lutz e posteriormente para Diretor desta Divisão. Em 1948, foi nomeado para exercer em comissão o cargo de Diretor Geral do Instituto Adolfo Lutz, cargo que exerceu ininterruptamente, de 15/5/48 a 26/1/50.

A partir de seu afastamento, como Diretor Geral, continuou a exercer a Diretoria de Microbiologia e Diagnóstico, até sua aposentadoria compulsória em 1966.

Com a morte do Prof. Dr. Alexandrino Pedroso, em 1925, Salles Gomes que também era seu assistente no Laboratório Central da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, foi designado para exercer a Chefia daquele Laboratório, o que fez até 31 de outubro de 1959, quando optou pelo ingresso em regime de Tempo Integral no Instituto Adolfo Lutz.

Em sua vida dedicada à ciência médica recebeu diversos títulos honoríficos tais como: *Médico Consultor* e depois *Médico Emérito*, conferidos pela Mesa Administrativa da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo; *Voto de Louvor* por sua contribuição e *Serviços Relevantes* pela participação na solução de problemas de saúde pública.

Foi também Conselheiro do Fundo de Pesquisas do Instituto Adolfo Lutz, de 1960 a 1963.

Durante sua vida funcional foi designado inúmeras vezes como Relator de Temas de Saúde Pública, assim como integrou diversas Comissões, tais como: Comissão de Estudo da Febre Ondulante, em São Paulo, Vacinação contra Poliomielite e Influenza em São Paulo.

Compareceu a inúmeros Congressos Médicos com apresentação de trabalhos, presidindo algumas sessões nos 3.º e 6.º Congressos Internacionais de Microbiologia (New York, 1939, e Roma, 1950).

Integrou a Banca de Examinadores de Concurso para ingresso de Médicos no Estado de São Paulo e a de Docência Livre de Microbiologia na Faculdade de Farmácia e Odontologia da USP.

Salles Gomes foi um pesquisador nato, quicá influenciado pelos acrisolados dotes de pesquisador científico com que fora aquinhado seu irmão mais velho, João Florêncio Gomes, Assistente do Instituto Butantan, a quem acompanhava em suas observações relativas ao ciclo biológico da *Dermatobia hominis* (varejeira) e na coleta de exemplares de cobras e de outros animais silvestres, para estudos de Sistemática.

Publicou isoladamente ou em colaboração 28 trabalhos científicos de ótimo nível, revelando em todos, aguçado tirocínio, sólida formação científica e profundos conhecimentos de nosso idioma.

A maioria de seus trabalhos versa sobre lepra, leptospirose, leishmaniose, riquetsiose, bacilos entéricos, e sobre a etiologia das doenças venéreas, tais como a sífilis, o cancroide e o "vírus da paradenite inguinal" (*Chlamydiae*-LGV).

Especial destaque merecem seus trabalhos sobre leptospiroses humanas pois, em 1930, juntamente com Toledo Piza, relatou um caso, o primeiro no Brasil de reprodução experimental da infecção em cobaia e com demonstração de leptospiroses em cortes histológicos dos rins do animal. Em nova publicação datada de 1933 relata o isolamento, em cultura pura, de leptospiroses a partir de sangue de paciente icterico, febril, que costumava banhar-se no rio Tietê. Luís Salles Gomes foi quem nos iniciou, nos idos de 1947, no estudo laboratorial das leptospiroses humanas, cujos frutos hoje somam mais de 40 publicações sobre o assunto. De sua pessoa humana, de seu fino trato, de seu caráter ilibado, da confiança e atenções com que nos distinguiu, de suas opiniões emitidas ao pitar o cigarro de palha feito com fumo de corda, de todas estas imagens guardamos imorredoura saudade.

Especial destaque merece ainda a monografia: "Typho exanthemático de São Paulo", editada em 1932, em colaboração com os eminentes médicos José de Toledo Piza e J. R. Meyer.

Pertenceu a várias Sociedades Científicas, deixou grande círculo de admiradores que por ele foram orientados em estágios ou cursos no Laboratório Central da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, e no Instituto Adolfo Lutz.

Teve a ventura de poder orientar por vários lustros no Laboratório Central da Santa Casa, e no Instituto Adolfo Lutz, seu filho recém-formado em medicina, Luís Florêncio de Salles Gomes, nosso colega e amigo, o qual também vem realizando notável carreira científica, seguindo a tradição familiar.

Salles Gomes sempre foi um homem simples e modesto, mesmo nos instantes solenes em que foi homenageado; carregava consigo boa dose de pureza de espírito, pois em todos acreditava, duvidava da maldade humana e era conciliador hábil. No entanto, quando se fazia necessário, era extremamente enérgico para com aqueles que se revelavam incorretos, faltosos e amigos da malversação.

Revelou durante sua vida apurado criticismo nos terrenos científico, administrativo e literato, chegando por vezes a argúcia e jocidade, traduzidas em inúmeros versos, alguns dos quais, publicados em jornais, a propósito de erros e vícios de linguagem encontrados em revistas, jornais, em colunas escritas por jornalistas, comentaristas ou mesmo literatos. Deleitava-se com a poesia e com artigos de fundo ou editoriais apresentados e escritos com clareza, estilo e correção idiomática.

Até sua aposentadoria, foi um exemplo de trabalho honesto e profícuo, a inspirar seus descendentes, colegas de profissão e subordinados.

A Luís Satyro de Salles Gomes, a saudosa homenagem de todos que com ele conviveram.

Marcelo Oswaldo Álvares Corrêa  
1983

## DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DAS PRINCIPAIS SUBSTÂNCIAS UTILIZADAS PARA FRAUDAR O CAFÉ TORRADO E MOÍDO \*

Fernando Cerviño LOPEZ\*\*

RIALA6/552

LOPEZ, F.C. — Determinação quantitativa das principais substâncias utilizadas para fraudar o café torrado e moído. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):3-8, 1983.

**RESUMO:** É descrita uma série de métodos, elaborados na Seção do Café do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, para identificação e determinação quantitativa das principais substâncias (açúcar, caramelo, cevada, milho, cascas de cacau e de soja), utilizadas para fraudar o café torrado e moído. São métodos simples e rápidos, posto que ao Serviço de Fiscalização local interessa a resposta da análise no mais curto espaço de tempo possível. É descrito, ainda, o aspecto das substâncias da fraude, num exame à lupa (aum. 20 x).

**DESCRIPTORIOS:** café (torrado e moído), determinação de substâncias adicionadas ao pó; café, detecção de fraudes.

### INTRODUÇÃO

Os métodos que serão descritos foram elaborados visando o máximo de praticabilidade e rapidez na determinação das fraudes mais frequentes detectadas no café torrado e moído, sem grande preocupação com a precisão da quantidade de substância adicionada ao café, visto que, como é de se prever, os fraudadores não homogeneizam perfeitamente as suas misturas e a própria natureza do café não permite que um método único abranja, com precisão, todos os casos. O importante é que o analista dê ao julgador do laudo a informação do tipo de fraude, e uma idéia bem aproximada da quantidade de substância que foi adicionada ao café contido na amostra.

Em Botânica Sistemática, o café pertence ao gênero *Coffea*, família das Rubiáceas, com subdivisões em grupos: *Coffea arabica*, *C. liberica* etc. A *Coffea arabica*, com suas variedades (caterra, maragogipe, bourbon etc.), constituem quase a totalidade do café cultivado no Brasil. As composições dessas variedades, as ligas de café que são formadas para o consumo e as transformações que ocor-

rem no pó, conforme o grau de torrefação dos grãos, são fatores que tornam impossível a elaboração de um único método de análise abrangendo, com precisão, todos os casos de mistura de café com substâncias estranhas (fraudes). Para usar de rigor e precisão no resultado da análise, cada amostra exigiria um trabalho de pesquisa de duração imprévisível.

### MATERIAL

O material de exame é constituído por amostra de café torrado e moído, colhidas pelo Serviço de Fiscalização do Instituto Brasileiro do Café, em todos os Estados da Federação, e pela Divisão de Alimentação Pública da Secretaria de Estado da Saúde, São Paulo, Brasil.

Devido à cor castanho-escura do café torrado e moído, as impurezas e as substâncias utilizadas nas fraudes, na grande maioria dos casos não são perceptíveis a olho desarmado. Para que se tornem visíveis, é necessário que a amostra receba um desengorduramento prévio feito com solvente orgânico de peso espe-

\* Realizado na Seção do Café do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

cífico alto (clorofórmio) e secagem, seguido de exame à lupa (aumento 20 x). E neste exame que as fraudes são, primeiramente, suspeitadas e, posteriormente, confirmadas por reações químicas, exame histológico etc.

### PREPARO DA AMOSTRA

Espalhe a amostra em cartolina e misture bem, com movimentos da periferia para o centro, com o auxílio de uma espátula. Divida em 4 partes, fazendo 2 cortes perpendiculares e misture 2 a 2 os quadrantes diametralmente opostos. Junte as 2 metades e misture novamente.

#### *Tratamento com clorofórmio*

##### *Material*

Vidro de relógio de 8 cm de diâmetro, cálice cônico de 75 ml, cilindro graduado de 100 ml, placa de Petri de 10 x 2 cm, papel-filtro qualitativo de 12,5 cm de diâmetro, tubo de ensaio de 24 x 2.

##### *Reagente*

Clorofórmio

##### *Procedimento*

Em vidro de relógio, pese 2 g da amostra homogeneizada. Em capela, transfira a amostra para um cálice cônico contendo 60 ml de clorofórmio. Com a extremidade de um bastão de vidro revolva, vagarosamente, a camada formada pelo pó de café, observando se há precipitação de sedimento. Em caso positivo, anote na tampa da placa de Petri, já marcada com o número da amostra. Em seguida, agite com bastão todo o conteúdo do cálice, deixando a mistura do pó de café e clorofórmio em contato, durante 20 minutos. Transfira a mistura para um funil com papel-filtro. Com o auxílio de um pincel, transfira, também, o pó de café aderente às paredes do cálice, após a evaporação espontânea do clorofórmio. Após filtração, transfira o papel-filtro com o pó de café para a placa de Petri e coloque em estufa a 50°C, durante 1 hora. Deixe esfriar e, com auxílio de espátula, retire o pó do papel para a placa e homogeneize-o.

A eliminação do pó fino (em tamis n.º 80 USBS\*) da amostra desengordurada facilita muito no reconhecimento das fraudes.

Em alguns casos (do caramelo, por exemplo), o tratamento prévio da amostra é feito com água.

### IDENTIFICAÇÃO DAS PRINCIPAIS SUBSTÂNCIAS UTILIZADAS NA FRAUDE

#### AÇÚCAR CRISTAL

No tratamento da amostra de café torrado e moído, com clorofórmio, a presença de açúcar

crystal é relevada pela formação de sedimento branco hialino. Para identificá-lo, efetue prova de solubilidade em água, de sabor, exame dos cristais em lupa (aumento 20 x), reação de Fiehe (inverter antes)<sup>2</sup>.

#### *Determinação quantitativa*

##### *Material*

Vidro de relógio de 8 cm de diâmetro, cálice cônico de 75 ml, cilindro graduado de 100 ml, Kitasato de 500 ml com rolha atravessada por tubo de vidro em forma de sifão, pesa-filtro de 12 ml, lâmina de vidro de 76 x 26 mm.

##### *Reagente*

Clorofórmio

##### *Procedimento*

Em vidro de relógio, pese 2 g da amostra homogeneizada e use, inicialmente, a mesma técnica já descrita no "tratamento com clorofórmio", revolvendo com cuidado a camada de pó de café até não haver mais precipitação do sedimento. Por intermédio de um sifão de vidro, ligado em um Kitasato, retire, usando vácuo e papel-filtro, a camada de café sobrenadante e os grânulos aderentes às paredes. Decante a maior parte do clorofórmio do cálice, deixando aproximadamente 5 ml, tendo o cuidado de não arrastar o sedimento. Coloque o cálice na estufa a 50°C para evaporar o clorofórmio restante. Com o auxílio de um pincel, transfira o sedimento para um pesa-filtro previamente seco em estufa, esfriado em dessecador e pesado. Seque em estufa a 50°C durante uma hora. Deixe esfriar em dessecador e pese. Transfira o sedimento para lâmina, examine em lupa (aumento 20 x) e efetue as provas para a identificação do açúcar.

##### *Cálculo*

$$\frac{N \times 100}{P} = \text{açúcar cristal por cento}$$

N = n.º de g do sedimento

P = n.º de g da amostra

#### CARAMELO

O açúcar fundido e apurado além do ponto de bala, para adquirir a cor castanha semelhante a do café torrado, é, depois de frio e moído, muito usado para fraudar o café, em qualquer proporção.

No exame à lupa (20 x), nas misturas abaixo de 40%, o caramelo adicionado apresenta-se sob a forma de corpúsculos brilhantes, translúcidos e mais ou menos arredondados, que cedem à pressão feita com uma agulha (cabo de Kolle). Nas misturas acima de 40%, dentro do "prazo de validade" do café, o pó permanece solto mas, depois de mais

\* United States Bureau of Standards.

alguns dias, dependendo do tipo de embalagem, o caramelo, por ser higroscópico, começa a melar, transformando o pó em bloco pastoso, duro.

Durante a torração, os açúcares naturais do café sofrem maior ou menor destruição, dependendo do grau e duração do calor usado. O mesmo acontece com o açúcar na fabricação do caramelo. Assim, os métodos usuais de dosagem levam a resultados errôneos.

Em determinações feitas em laboratório constatamos que, conforme a espécie, variedade, qualidade ou grau de torração do café, o extrato aquoso varia de 23 a 33%. Entretanto, na grande maioria dos casos, o extrato aquoso mais comum gira em torno de 30% e é por este motivo que usamos este valor nos nossos cálculos, visto que o extrato aquoso do café que serviu de base à mistura com a frande é sempre desconhecido.

Se tratarmos, com água quente e filtração, a amostra que revelou presença de caramelo, estamos retirando o caramelo e o extrato aquoso do café, e o resíduo (borra) resultante representará 70% do café que serviu de base à mistura. Restaurando a quantidade de café e subtraindo-a do peso da amostra seca, teremos o peso do caramelo.

A amostra a ser usada será a original que, nos cálculos, terá deduzida a umidade determinada em separado.

#### Determinação quantitativa da umidade

##### Material

Cápsula de níquel, fundo chato, de 90 mm de diâmetro e 12 mm de altura, munida de tampa com alça; areia tratada por solução a 20% v/v de ácido clorídrico a quente e, depois, lavada com água até reação neutra, e secada em estufa a 105°C; bastão de vidro, curto.

##### Procedimento

Pese a cápsula com 10 g de areia tratada e o bastão de vidro, previamente secos em estufa a 105°C e esfriados em dessecador. Adicione 2 g da amostra. Retire a tampa e coloque a cápsula na estufa a 105°C durante 8 horas, revolvendo a mistura ocasionalmente. Esfrie em dessecador, coloque a tampa e pese. Repita a operação por mais 2 horas ou até obter peso constante.

##### Cálculo

$$\frac{N \times 100}{P} = \text{porcentagem da umidade}$$

N = peso total inicial menos peso final  
P = peso da amostra

#### Determinação quantitativa do caramelo

##### Material

Vidro de relógio de 8 cm de  $\phi$ , bquer de 400 ml, filtro Buchner 10 cm boca, Kitasato de 1.000 ml, papel-filtro, tampa de placa de Petri de 10 cm de  $\phi$ .

##### Procedimento

Em vidro de relógio, pese 5 g da amostra. Transfira para bquer de 400 ml e adicione 300 ml de água destilada. Deixe em repouso durante uma noite. Aqueça até ebulição, agitando com bastão, durante 10 minutos. Deixe em repouso durante 2 minutos e filtre o líquido sobrenadante em funil-buchner, a vácuo sem transferir o depósito. Adicione ao bquer 300 ml de água destilada, leve à ebulição durante 10 minutos, agite e transfira todo o conteúdo para o funil. Lave o resíduo no papel-filtro, com água quente até obter filtrado incolor. Com o auxílio da ponta de uma espátula, levante a beira do disco do papel-filtro e transfira-o para uma tampa de placa de Petri. Coloque na estufa a 105°C durante 2 horas. Esfrie em dessecador. Retire o resíduo do papel-filtro para a tampa da placa, raspando com espátula. Pese e deduza o peso da tampa.

Identifique o resíduo, no exame à lupa (20 x), e o caramelo, com solução de resorcina<sup>2</sup>.

##### Cálculo

$$a) \frac{N \times 100}{70} = R$$

N = peso do resíduo

R = peso do café restaurado

$$b) \frac{(P - R) \times 100}{P} = \text{porcentagem de caramelo}$$

P = peso da amostra, deduzida a umidade

R = peso do café restaurado

#### CEVADA (*Hordeum vulgare*)

No exame à lupa (20 x), na mistura de café e cevada, ambos torrados e moídos, o endosperma da cevada é muito parecido com o do café, mas as cascas, devido ao formato oblongo do grão e sentido longitudinal das fibras, apresentam-se com o aspecto de ponta de lança ou como fragmentos retangulares, sempre com fibras aparentes. São bem diferentes das cascas do café, mas podem ser confundidas com as cascas do trigo (diferenciação pelo exame histológico).

##### Determinação quantitativa

Determinamos o extrato aquoso de várias amostras de cevada torrada e moída, e encontramos como resultado médio: 68% de extrato aquoso.

A determinação quantitativa da cevada torrada e moída em mistura com o café torrado e moído é baseada no fato de que o extrato aquoso da cevada é mais do que o dobro do extrato do café e, por cálculo, é possível estabelecer os extratos das misturas (tabela 1).

TABELA 1

*Porcentagem de extrato aquoso das misturas de cevada com café*

Café %	Cevada %	Extrato aquoso %
100	0	30,0
90	10	33,8
80	20	37,6
70	30	41,4
60	40	45,2
50	50	49,0
40	60	52,8
30	70	56,6
20	80	60,4
10	90	64,2
0	100	68,0

Com os dados acima, traçando uma curva com as coordenadas porcentagem de cevada versus extrato aquoso das misturas, teremos o resultado direto da amostra analisada, sem necessidade de interpolar.

pois, nesse ponto de torra, parte do amido está dextrinizada. As cascas do milho torrado e moído são finas, chatas, estriadas e de bordos retos.

*Determinação quantitativa*

Baseia-se no mesmo princípio usado para a cevada.

MILHO (*Zea mays*)

No exame à lupa (20 x), das misturas de milho torrado e moído com café torrado e moído, o milho, quando pouco torrado, apresenta-se como grânulos de cor amarelo-âmbar, translúcidos, que dão, com o lugol, reação azul-arroxeadada. Quando muito torrado, os grânulos apresentam-se de cor preta, brilho vítreo e, com o lugol, dão reação de cor castanha

Determinamos o extrato aquoso de várias amostras de milho torrado e moído e encontramos como resultado médio 71%. Por cálculo, podem ser estabelecidos os extratos aquosos das misturas de milho torrado e moído com café torrado e moído (tabela 2). Com os dados da tabela 2, traçar curva para evitar interpolação.

TABELA 2

*Porcentagem de extrato aquoso das misturas de milho com café*

Café %	Milho %	Extrato aquoso %
100	0	30,0
90	10	34,1
80	20	38,2
70	30	42,3
60	40	46,4
50	50	50,5
40	60	54,6
30	70	58,7
20	80	62,8
10	90	66,9
0	100	71,0

### SOJA (*Glycine max*)

No exame à lupa (20 x), nas misturas de soja torrada e moída com café torrado e moído, o endosperma da soja apresenta grânulos de paredes retas e lisas. A soja diferencia-se do feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) pelas cascas: neste, elas são lisas interna e externamente e, na soja, são lisas e brilhantes na parte interna e no lado externo, apresentam furos (depressões) semelhantes à casca de morango.

#### Determinação quantitativa

É feita por avaliação, por campo, no exame à lupa (20 x), depois de passar a amostra desengordurada em tamis n.º 80 USBS. Levam em consideração que o café torrado é bem mais friável que a soja torrada e, portanto, o pó fino que passa no tamis n.º 80, e que geralmente representa ao redor de 50% da amostra, é constituído quase que exclusivamente de café.

### CACAU (*Theobroma cacao*), cascas

No exame à lupa (20 x), as cascas de cacau, em mistura com o café torrado e moído, apresentam 3 tipos diferentes que são fáceis de ser reconhecidos, mas difíceis de ser descritos. Assim, o analista precisa fazer suas próprias amostras para saber reconhecer as cascas de cacau nas amostras fiscais.

#### Determinação quantitativa

Pode ser feita: a) por avaliação, por campo, no exame à lupa (20 x). Para melhor visão, transferir a amostra desengordurada para tamis n.º 80 USBS e, na avaliação, levar em consideração a quantidade (ao redor de 50%) de pó fino que foi eliminada e que é constituída quase que exclusivamente de café; b) por adaptação do método usado na "Determinação do sedimento, cascas e paus no café torrado e moído"<sup>1</sup> às cascas de cacau.

Na investigação das fraudes, o analista precisará, antes de tudo, estar bem acostumado ao aspecto do café sob suas diferentes formas: cafés de baixa qualidade, cafés demasiadamente torrados ou com torração mal feita, moagem em moínho tradicional ou de rolos etc.

### RESULTADOS

A principal causa de condenação das amostras fiscais de café torrado e moído foi a presença, no pó de café, de cascas e paus acima do limite permitido pela legislação pertinente, que é de 1,0%. Algumas amostras de café torrado e moído também foram condenadas por conterem substâncias estranhas, tais como milho, caramelo, cevada, em proporção que, às vezes, chegava a 95% e, pela mesma legislação, não é permitida qualquer quantidade dessas substâncias no pó de café. A seguir, damos uma tabela referente às amostras condenadas, durante o período de 1976 a 1980, aplicando-se os métodos anteriormente descritos.

TABELA 3

*Amostras de café, torrado e moído, condenadas por apresentarem substâncias estranhas*

Ano	N.º de amostras examinadas	Número de amostras condenadas pela presença de:							
		Caramelo	Caramelo e cevada	Caramelo e cascas de cacau	Cevada	Milho	Soja	Açúcar cristal	Cascas de cacau
1976	8.762	31	4	8	23	47	4	15	6
1977	9.127	43	5	0	31	39	1	9	3
1978	9.232	66	5	2	33	47	1	8	0
1979	6.360	31	3	2	7	24	2	0	0
1980	4.799	59	11	0	14	14	2	2	0

RIALA6/552

LOPEZ, F.C. — Quantitative determination of the substances more frequently employed in frauding ground roasted coffee. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2): 3-8, 1983.

ABSTRACTS: Tests are described for identification and quantitative determination of substances such as sugar, caramel, barley, corn, cacao hulls, and soy bean which are commonly employed for frauding ground toasted coffee in Brazil. The appearance of the frauding substances under low-power (20x) microscopy is described as well as simple rapid procedures for their determination.

DESCRIPTORS: coffee (roasted and ground), frauds, detection of foreign matters.

LOPEZ, F.C. — Determinação quantitativa das principais substâncias utilizadas para fraudar o café torrado e moído. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):3-8, 1983.

---

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INSTITUTO ADOLFO LUTZ, São Paulo — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. vol. 2: *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 2.<sup>a</sup> ed. São Paulo, 1976. p. 88, 130.

2. LOPEZ, F.C. — Determinação de sedimento, cascas e paus no café torrado e moído. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34:29-34, 1974.

*Recebido para publicação em 30 de janeiro de 1981.*



## DETERMINAÇÃO DO TEOR DE SUCO DE MARACUJÁ EM PRODUTOS INDUSTRIALIZADOS\*

Emiko Ikejiri INOMATA \*\*  
Myrna SABINO \*\*  
Waldomiro PREGNOLATTO \*\*  
Maria Sylvia CONCILLIO \*\*

RIALA6/553

INOMATA, E.I.; SABINO, M.; PREGNOLATTO, W. & CONCILLIO, M.S. —  
Determinação do teor de suco de maracujá em produtos industrializados.  
*Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):9-14, 1983.

**RESUMO:** Com a finalidade de controlar a qualidade, autenticidade e concentração de produtos de maracujá industrializados, foi desenvolvido um método químico baseado na extração dos aminoácidos livres, separação da D,L alanina, que é um componente constante e natural desta fruta, por cromatografia em papel circular, revelação com ninidrina e dosagem espectrofotométrica do derivado colorido. Foi determinado o conteúdo de D,L alanina em 25 amostras de sucos genuínos de maracujá de procedências diferentes, em épocas diferentes; o teor médio de D,L alanina encontrado foi de 27,0 mg/100 ml do suco. Em 32 sucos diferentes industrializados, o teor de D,L alanina livre encontrado variou de 4,5 a 30,0 mg por 100 ml. A sensibilidade do método permite a determinação do conteúdo de suco de maracujá nesses produtos até a concentração de 1,0% m/v. Foram também determinados outros componentes do maracujá.

**DESCRITORES:** maracujá (*Passiflora edulis*), suco; D, L alanina, determinação em suco de maracujá.

### INTRODUÇÃO

É elevado o consumo de suco natural de maracujá, no Brasil, pelas suas qualidades nutritiva e refrescante.

A determinação do suco de maracujá que entra na composição dos produtos industrializados (refrescos, aperitivos, concentrados) constitui um sério problema para os laboratórios incumbidos de controlar a qualidade e autenticidade de tais produtos.

A literatura registra alguns trabalhos sobre métodos químicos para separação e dosagem dos aminoácidos em produtos naturais, através da cromatografia em coluna<sup>4, 5, 6, 10, 11</sup>, em camada delgada<sup>3, 8, 12</sup>, e em papel<sup>1, 2, 7</sup>, mas não registra nenhum método confiável para

a determinação da concentração do suco deste fruto nos produtos industrializados.

Baseados em trabalhos como o de UNDERWOOD & ROCKLAND<sup>13</sup>, passamos a verificar quais os aminoácidos livres existentes no suco de maracujá, sua constância qualitativa e quantitativa, e variação em função da variedade e origem geográfica do fruto. As experiências preliminares nos indicaram ser a alanina um componente razoavelmente constante e específico no maracujá, daí ter sido escolhida para a finalidade proposta.

A separação da D, L alanina dos demais aminoácidos foi feita através da cromatografia circular em papel e quantificada por espectrofotometria, no visível, do composto resultante da reação com ninidrina. Paralelamente foi feita uma reavaliação dos diversos componentes do suco de maracujá<sup>9</sup>.

\* Realizado na Seção de Química Biológica do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material

Sucos de maracujá, preparados no laboratório do Instituto Adolfo Lutz, e sucos industrializados.

### Equipamento

Espectrofotômetro Vis-uv.

Cuba para cromatografia em papel circular, de 40 x 40 cm

Papel Whatman n.º 1, 40 x 40 cm

### Reagentes

Isopropanol a 10,0% em água

N-butanol p.a.

Ácido acético p.a.

D, L alanina p.a.

Ninidrina p.a.

Acetona p.a.

Sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O)

Solução padrão de D, L alanina p.a. —

Preparar uma solução estoque de 0,1 mg/ml em isopropanol a 10,0%, m/v, em água. Manter essa solução em refrigerador.

Solução de sulfato de cobre — Preparar uma solução de CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, a 0,04%, m/v, em água.

### Solvente para cromatografia

N-butanol ácido acético, água (4:1:1). Preparar imediatamente antes de usar.

### Revelador

Solução de ninidrina a 0,04%, em m/v, em acetona p.a. Conservar em refrigerador.

### Papel para cromatograma

Recortar a folha de papel Whatman n.º 1 no tamanho de 40 x 40 cm (desde que a cuba seja do tamanho recomendado), fazer um pequeno orifício no centro, onde deverá ser adaptado um pavio feito com tiras do mesmo papel. Num raio de 2 cm ao redor do centro, marcar os pontos de partida (até 6 no máximo) onde serão aplicadas as soluções das amostras e do padrão.

### Amostra

#### a) Preparação

Triturar o maracujá, sem a casca, no liquidificador. Filtrar o suco em gase e conservá-lo no congelador. Transferir 10 ml do filtrado para frasco Erlenmeyer de 125 ml, adicionar 20 ml de isopropanol a 10%, v/v. Agitar durante 30 minutos e, em seguida, filtrar em papel de filtro.

#### b) Cromatografia

Aplicar no papel, através de micropipeta, de 40 a 60 µl da solução isopropanólica de maracujá e, num segundo ponto de partida, aplicar exatamente 20 µl da solução de D, L alanina padrão. Transferir o papel para a

cuba e desenvolver o cromatograma com o solvente, segundo a técnica, ficando o pavio imerso no solvente contido numa pequena cápsula, através da qual o solvente fluirá. O papel fica em posição horizontal. Quando o solvente atingir a distância de 18 cm, retirar o papel da caixa e secar em corrente de ar. Uma vez seco, revelar pulverizando com a solução de ninidrina e aquecer em estufa a 60°C, por 30 minutos. Aparecem zonas circulares de coloração azul-violeta, em diferentes Rf. Só será utilizado na técnica o conteúdo da zona que aparece a um Rf compreendido entre 0,5 e 0,6. (Recomenda-se cromatografar sempre junto com a amostra de suco a D, L alanina padrão, pois a saturação da cuba e a variação da temperatura ambiental influem no valor do Rf.

*Confirmação da D, L, alanina:* para confirmar que na zona compreendida entre Rf 0,5 e 0,6 continha D, L alanina, foi feita uma cromatografia em papel bidimensional, usando-se na segunda fase, como solvente, fenol-amônia (4:1). Este aminoácido foi identificado pela posição indicada pelo padrão no próprio cromatograma, e não pelo Rf como se faz usualmente.

#### c) Avaliação

Recortar a mancha de D, L alanina padrão e a correspondente à do maracujá do mesmo Rf, transferi-las para tubos de centrifuga e elui-las com 4 ml da solução eluente. Agitar e esperar 30 minutos. Centrifugar a 3.000 rpm, por 5 minutos. Ler a absorbância do sobrenadante a 520 nm no espectrofotômetro, usando como branco a solução eluente previamente tratada com pedaços de papel utilizado na cromatografia. Calcular o teor de D, L alanina no suco de maracujá natural através da fórmula:

$$\frac{f \times A_a}{A_p \times V} = \text{mg de D, L alanina por 100 ml de suco, nas condições propostas}$$

A<sub>a</sub> = absorbância da amostra

A<sub>p</sub> = absorbância do padrão

V = volume em ml da solução da amostra cromatografada

f = fator de diluição da amostra. O fator de diluição é a relação entre o volume final e volume inicial da amostra.

Para produtos industrializados, preparar diluições isopropanólicas apropriadas do produto e proceder como para o suco de maracujá natural, preparado no laboratório. Calcular a porcentagem de suco natural de maracujá no produto, usando a fórmula:

$$\frac{C \times 100}{27} = \text{porcentagem de suco natural de maracujá no produto}$$

C = quantidade de D, L alanina em mg por 100 ml calculada na fórmula anterior

27 = valor médio em mg por 100 ml de alanina no suco natural de maracujá

## RESULTADOS

Usando-se a técnica descrita, avaliou-se inicialmente a quantidade de D, L alanina presente em sucos de maracujá preparados em laboratório. Os frutos eram quase sempre originários de diferentes áreas do Estado de São Paulo e de algumas áreas do norte do País mas, na maioria, foram obtidos em supermercados e feiras livres, em diferentes épocas, durante o período de um ano. Foram preparadas em laboratório, 25 amostras de sucos a partir de 25 diferentes amostras do fruto. Os valores do aminograma dos aminoácidos livres presentes no suco de maracujá estão relacionados na tabela 1. Na tabela 2 encontram-se os valores de alanina, com teor médio de 27 mg por 100 ml, sendo que o valor

máximo encontrado foi de 29 mg, e o mínimo, de 25,5 mg. Usaram-se para cada tomada da amostra 5 kg de maracujá.

Foram feitos também testes de recuperação da alanina, usando-se como suporte suco de maracujá comercial, contendo 15 mg do aminoácido por 100 ml, ao qual se adicionaram 10 mg de D, L alanina por 100 ml. Na tabela 3 encontram-se os resultados obtidos em 5 determinações, cuja média é de 99,0%.

Para testar a reprodutibilidade do método, foram preparadas 6 diluições aquosas diferentes, a partir de um suco testemunho de concentração conhecida, cujas concentrações foram determinadas seguindo-se rigorosamente a técnica descrita. Os resultados obtidos encontram-se na tabela 4.

TABELA 1

*Aminograma: porcentagem do total de aminoácidos livres no suco de maracujá natural, preparado no laboratório*

Rf	Aminoácidos	%
0,1-0,2	cistina	2,9
0,2-0,3	lisina, taurina, histidina, arginina, asparagina	2,9
0,3-0,4	glicina, ácido aspártico, serina	32,0
0,4-0,5	ácido glutâmico, treonina	30,4
0,5-0,6	alanina, prolina	23,0
0,6-0,7	tirosina, triptofano	3,3
0,7-0,8	fenilalanina, metionina, valina	3,0
0,8-0,9	leucina, isoleucina	2,5

TABELA 2

*Teor de D, L alanina livre em sucos de maracujá natural, preparados no laboratório*

Amostra n.º	Alanina livre mg/100 ml	N.º	Alanina livre mg/100 ml	N.º	Alanina livre mg/100 ml
1	27,0	10	28,2	18	27,0
2	28,0	11	26,5	19	27,0
3	28,8	12	26,5	20	25,5
4	29,0	13	27,2	21	28,5
5	25,5	14	26,0	22	27,0
6	27,0	15	27,0	23	26,0
7	26,0	16	26,2	24	25,5
8	28,5	17	26,0	25	26,8
9	28,0				

\* Teor médio — 27,0 mg/100 ml.

TABELA 3

*Recuperação de D, L alanina adicionada a suco de maracujá*

Amostra n.º	Porcentagem de alanina recuperada
1	101,0
2	98,5
3	98,0
4	98,0
5	99,5
Média	99,0

TABELA 4  
*Reprodutibilidade do método*

Amostra n.º	Diluição do suco testemunho	Valores encontrados
	v/v %	v/v %
1	2,0	1,9
2	5,0	4,8
3	10,0	9,6
4	15,0	15,0
5	25,0	25,2
6	50,0	48,0

Usando-se a técnica atrás descrita foram colhidas para análise fiscal 32 amostras de suco de maracujá integral exposto ao consumo em cinco supermercados distintos, pertencentes a sete produtores diferentes, sendo que o produto F foi encontrado somente em quatro supermercados e o G, somente em três. Todos os produtos foram analisados pelo método descrito e os resultados encontram-se na tabela 5, onde se relacionou o teor de D, L alanina encontrado — concentração do suco. Das 32 amostras analisadas, somente 8 correspondiam, de fato, a suco de maracujá integral.

Para nos certificarmos de que o método pode ser aplicado com relativa segurança em análises ditas de fiscalização, verificou-se a estabilidade da D, L alanina no suco mantido em condições ambientais, durante 3 meses, com determinação do seu teor de 15 em 15 dias, mas a variação dos resultados obtidos após esse tempo não foi significativa.

Aproveitando o material disponível, procedemos a uma análise bromatológica dos sucos, com pesquisa e determinações de alguns componentes como Ca, P etc. Os resultados encontram-se na tabela 6.

TABELA 5  
*Teor de D, L alanina livre e porcentagem do suco de maracujá natural nos produtos industrializados*

Amostra n.º	Marca do produto	d,l alanina livre mg/100 ml suco	Porcentagem de suco natural
1	A	4,5	16,66
2	A	5,5	20,37
3	A	6,0	22,22
4	A	7,5	27,77
5	A	8,0	29,63
6	B	27,0	100,00
7	B	30,0	111,11
8	B	25,0	92,59
9	B	26,0	92,29
10	B	28,0	103,70
11	C	18,0	66,66
12	C	15,0	55,55
13	C	14,0	51,85
14	C	16,0	59,26
15	C	17,5	64,81
16	D	7,5	27,77
17	D	8,0	29,63
18	D	8,5	31,48
19	D	8,0	29,63
20	D	7,0	25,92
21	E	19,0	70,37
22	E	20,0	74,07
23	E	20,5	75,92
24	E	21,0	77,77
25	E	22,0	81,48
26	F	20,5	75,92
27	F	20,0	74,07
28	F	19,0	70,37
29	F	18,5	68,52
30	G	27,5	101,85
31	G	26,0	96,29
32	G	25,0	92,59

TABELA 6

Composição percentual e determinações diversas no suco de maracujá natural

Determinações	Porcentagem (%)
Perda por aquecimento a 105°C m/v	86,73
Glicídios redutores, em glicose m/v	3,00
Glicídios não redutores em sacarose m/v	1,44
Acidez em solução normal v/v	15,15
Cinzas, m/v	1,18
Lipídios (substâncias solúveis em éter) m/v	0,36
Protídios m/v	1,43
Vitaminas C m/v	0,026
Cálcio (em Ca) p/p	0,18
Fosfato (em P) p/p	0,025
Colina	não encontrada
Betaina	não encontrada

#### CONCLUSÃO

Em função dos valores máximos e mínimos de D, L alanina encontrados, produtos comerciais, apresentando concentrações entre 94,00 e 107,00% de suco, devem ser considerados como genuínos.

A sensibilidade do método permite a determinação do conteúdo do suco de maracujá em

produtos industrializados na concentração de até 1,0% de suco.

O método apresentado é simples, reproduzível e realizável em laboratórios modestos, e constitui uma ferramenta útil em busca de fraude em produtos de maracujá. Recomenda-se, todavia, um estudo experimental colaborativo para a efetivação do processo.

RIALA6/552

INOMATA, E.I.; SABINO, M.; PREGNOLATTO, W. & CONCILLIO, M.S. — Chemical determination of passion-fruit juice of industrial products. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):9-14, 1983.

**ABSTRACT:** Free alanine, a stable natural component of passion-fruit was separated from the aminoacids which were previously extracted from the passion-fruit juice. Circular filter paper chromatography and spectrophotometric determination of the violet derivate of D, L alanine obtained with nuhydrin were determined. A mean content of 27.0 mg per 100 ml of juice was obtained in 25 samples of passion-fruit juice prepared in the laboratory. Values ranging from 4.5 to 30.0 mg per 100 ml were found in 32 samples of industrial juice. The sensitivity of the method allows detection of free alanine in passion-fruit juices diluted 100 times.

**DESCRITORES:** purple granadilla (*Passiflora edulis*), juice; D, L alanine in purple granadilla, determination; passion-fruit.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CURZON, G. & GILTROW, J. — A chromatographic colour reagent for a group of amino acids. *Nature (Lond.)*, 172:356-7, 1953.
2. DENT, C.E. — A study of behaviour of some sixty amino acids and other ninhydrin reacting substances on phenol-collidine. Filter paper chromatograms with notes as to the occurrence some of them in biological fluids. *Biol. J.*, 43:169-80, 1948.

3. MARTIN, A.J.P. & SYNGE, R.L.M. — A new form chromatogram employing two liquid phases. 1. A theory of chromatography. 2 Application to the micro-determination of the higher mono-amino-acids in protein. *Biochem. J.*, 35: 1358-68, 1941.
4. MAYER, S.W. & TOMPKINS, E.R. — Ion exchange as a separations method. IV. A theoretical analysis of the column separations process. *J. Am. Chem. Soc.*, 69:2866-74, 1947.
5. MOORE, S. & STEIN, W.H. — Chromatography of amino acids on sulfonated polystyrene resins. *J. biol. Chem.*, 192: 663-81, 1951.
6. MOORE, S. & STEIN, W.H. — Chromatography of amino acids on starch columns. Solvent mixtures for the fractionation of protein hydrolysates. *J. biol. Chem.*, 178:53-77, 1949.
7. MOORE, S. & STEIN, W.H. — Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of amino acids. *J. biol. Chem.*, 176:367-88, 1948.
8. SANGER, F. — The free amino groups of insulin. *Biochem. J.*, 39:507-15, 1945.
9. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. v. 1: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 2.<sup>a</sup> ed. São Paulo, 1976. p. 140-42.
10. SPACKMAN, D.H.; STEIN, W.H. & MOORE, S. — Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Anal. Chem.*, 30:1190-206, 1958.
11. STEIN, W.H. & MOORE, S. — Chromatography of amino acids on starch columns. Separation of phenylalanine, leucine, isoleucine, methionine, tyrosine and valine. *J. biol. Chem.*, 176:337-65, 1948.
12. TRISTRAM, G.R. — Observations upon the application of partition chromatography to the determination of the monoamino-acids in proteins. *Biochem. J.*, 40:721-33, 1946.
13. UNDERWOOD, J.C. & ROCKLAND, L.B. — Nitrogenous constituents in citrus fruits. 1. Some free amino acids citrus juices determined by small-scale filter-paper chromatography. *Food Res.*, 18:17-29, 1953.

Recebida para publicação em 29 de setembro de 1982.

## ASPECTOS DA CONTAMINAÇÃO POR CÁDMIO EM PRODUTOS DO MAR COLETADOS NO ESTUÁRIO DE SANTOS, BAÍA DA GUANABARA E BAÍA DE TODOS OS SANTOS \*

Myrian de TOLEDO \*\*  
Alice Momoyo SAKUMA \*\*  
Waldomiro PREGNOLATTO \*\*

RIALA6/554

TOLEDO, M.; SAKUMA, A. M. & PREGNOLATTO, W. — Aspectos da contaminação por cádmio em produtos do mar coletados no Estuário de Santos, Baía da Guanabara e Baía de Todos os Santos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):15-24, 1983.

**RESUMO:** Cádmio foi analisado por espectrofotometria de absorção atômica com chama em 161 amostras de peixe e de outras espécies marinhas comumente consumidas e encontradas em três pontos do litoral brasileiro: Estuário de Santos, no Estado de São Paulo, Baía da Guanabara, no Estado do Rio de Janeiro, e Baía de Todos os Santos, no Estado da Bahia. De todas as amostras analisadas, 90% apresentaram teor de cádmio abaixo de 0,03 mg/kg, sendo que na maior parte delas (85,7%) era  $\leq$  0,01 mg/kg. A mineralização da amostra foi feita por via seca.

**DESCRITORES:** cádmio, traços, detecção em peixes, ostras e crustáceos; peixes, ostras, crustáceos, detecção de cádmio; espectrofotometria de absorção atômica com chama.

### INTRODUÇÃO

Os metais pesados são largamente distribuídos na crosta terrestre e nos oceanos. É inevitável que traços desses metais sejam encontrados em quase todas as plantas e animais e, portanto, em nossos alimentos.

A necessidade de um programa coordenado para a avaliação de traços de metais no meio ambiente, em termos nacionais e internacionais, tornou-se evidente, em 1972, na "U.N. Conference of the Human Environment", em Estocolmo, na forma da recomendação definitiva n.º 78 (SOMMERS, E. <sup>10</sup>).

O cádmio, aparentemente, não é um dos elementos essenciais à vida humana. Quando ingerido pelo homem, é tóxico e, dependendo da quantidade ingerida, poderá trazer danos à

saúde. Tem duas propriedades que podem causar problemas no meio ambiente: pressão de vapor relativamente alta, que explica sua perda por vaporização a temperaturas acima de 500°C, e solubilidade em ácidos fracos diluídos, ou em água doce. No estudo da persistência da forma tóxica do metal, ao contrário do que ocorre com os derivados alquilmercuriais, os compostos alquicádmio são extremamente instáveis, reagem rapidamente com água, e à umidade do ar <sup>2</sup>.

Após estudos sobre absorção, metabolismo, acumulação, excreção, efeitos carcinogênicos <sup>3</sup>, teratogênicos e mutagênicos <sup>11</sup>, o Comitê de Peritos da FAO/OMS de Aditivos para Alimentos propôs, para o cádmio, uma ingestão semanal máxima tolerável de 0,4-0,5 mg por indivíduo adulto. O limite estabelecido em 1972 <sup>11</sup>, foi mantido em 1982 <sup>6</sup>.

\* Realizado na Seção de Equipamentos Especializados do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP. Elaborado por solicitação e com suporte financeiro da Secretaria Especial do Meio Ambiente, Brasília, DF.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

Estudos sobre a exposição atual ao cádmio, extensão do uso deste metal que, em 1973, foi de 17.813 t/ano<sup>2</sup>, ocorrência e avaliação no meio ambiente, são fatores que o incluem entre os metais a serem estudados prioritariamente.

Este trabalho teve por finalidade iniciar o levantamento de dados que nos pudessem fornecer uma idéia dos níveis de contaminação por cádmio em peixes e em outras espécies marinhas comumente encontrados e consumidos. Foram escolhidas três regiões litorâneas que, por seu desenvolvimento industrial e alta densidade populacional, talvez apresentassem algum problema: Estuário de Santos (São Paulo), Baía da Guanabara (Rio de Janeiro) e Baía de Todos os Santos (Bahia).

### COLHEITA DE MATERIAL

Entre 21/1/78 e 31/10/78 foram colhidas amostras nas regiões mencionadas, em três diferentes ocasiões, com exceção da Baía de Todos os Santos, onde foram colhidas amostras em somente duas ocasiões.

A amostragem foi efetuada com base na técnica italiana<sup>9</sup> que nos pareceu bem adequada para o cádmio, apesar de haver sido elaborada para mercúrio, de acordo com o seguinte esquema:

- "a) Partidas de peixes com peso unitário superior a 10 kg
- |                      |           |
|----------------------|-----------|
| até 50 t .....       | 10 peixes |
| de 50 a 100 t .....  | 15 peixes |
| de 100 a 200 t ..... | 20 peixes |
| mais de 200 t .....  | 25 peixes |
- b) Partidas de peixes com peso unitário compreendido entre 1 e 10 kg
- |                      |           |
|----------------------|-----------|
| até 10 t .....       | 10 peixes |
| de 10 a 30 t .....   | 15 peixes |
| de 30 a 100 t .....  | 20 peixes |
| de 100 a 200 t ..... | 30 peixes |
| mais de 200 t .....  | 40 peixes |
- c) Partidas de peixes com peso unitário inferior a 1 kg, e partidas de moluscos e crustáceos
- |                      |            |
|----------------------|------------|
| até 5 t .....        | 10 peixes  |
| de 5 a 10 t .....    | 15 peixes  |
| de 10 a 30 t .....   | 20 peixes  |
| de 30 a 100 t .....  | 30 peixes  |
| de 100 a 200 t ..... | 40 peixes  |
| mais de 200 t .....  | 50 peixes" |

"Para partidas inferiores a uma tonelada, o mínimo de unidades (embora não superior a 10) é deixado a critério do selecionador."

*Processo de retirada:* para produtos a e b — de cada peixe escolhido retirar uma amostra que deve ser constituída de 50 a

200 g da parte muscular. A retirada deve ser efetuada com material próprio (serra, ponta de furador, faca etc.); para produtos c, um ou mais peixes inteiros constituem a amostra de modo tal a formarem um peso não inferior a 100 g.

Quase todo o material utilizado foi obtido diretamente de pescadores artesanais, sendo portanto partidas inferiores a 1 t, pescadas a pequena distância da costa.

As tabelas 1, 2 e 3 das páginas seguintes reproduzem os locais, datas das coletas, espécies obtidas com sua denominação popular e resultados.

As amostras foram numeradas, colocadas em sacos plásticos de polietileno incolor, e mantidas em gelo seco em sacolas térmicas ou congeladores, durante a coleta e transporte. No laboratório, foram descongeladas, limpas com auxílio de facas, tiveram a parte muscular retirada, foram homogeneizadas em liquidificador e pesadas.

### MÉTODO

Foram determinadas as concentrações de cádmio em 161 amostras de peixe e de outros produtos do mar, tendo sido utilizado o método de espectrofotometria de absorção atômica, com chama.

#### *Equipamentos*

Espectrofotômetro de absorção atômica\*; corretor de background de deutério<sup>7</sup>; lâmpada de cádmio EDL e respectiva fonte; queimador de 10 cm para chama de ar/acetileno e impressora de resultados.

*Condições do aparelho:* comprimento de onda 228,8 nm; fenda 0,7 nm; chama oxidante;

*Região de trabalho:* 0-2 mg/l de cádmio.

#### *Reagentes*

Cádmio metálico (99,9% de pureza)

Ácido nítrico (com baixo teor de cádmio)

Ácido clorídrico (com baixo teor de cádmio)

#### *Soluções-padrão de cádmio*

*Solução estoque,* 1.000 mg/l — Dissolver 1,000 g de cádmio metálico em 165 ml de HCl em frasco volumétrico de 1 litro. Diluir até esse volume com água desmineralizada.

*Solução intermediária,* 10 mg/l — Diluir com HCl 2N. Preparar na hora de usar.

*Soluções de trabalho* — A partir da solução intermediária, diluir com HCl 2N (0,0 — 0,1 — 0,2 — 0,3 — 0,5 — 1,0 e 2,0 mg/l de cádmio respectivamente).

\* Perkin Elmer, mod. 460.



TOLEDO, M.; SAKUMA, A.M. & PREGNOLATTO, W. — Aspectos da contaminação por cádmio em produtos do mar coletados no Estuário de Santos, Baía da Guanabara e Baía de Todos os Santos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):15-24, 1983.

TABELA 1

Níveis de cádmio em 73 amostras de espécies marinhas do Estuário de Santos, SP

Local da pesca	Produto	Níveis de cádmio mg/kg de peso úmido		
		1. <sup>a</sup> amostragem janeiro/1978	2. <sup>a</sup> amostragem junho/1978	3. <sup>a</sup> amostragem setembro/1978
Praia de Bertioga	Siri	—	—	0,01
	Camarão	0,00	< 0,01	—
	Pescada	—	< 0,01	—
	Salteira	—	< 0,01	—
	Maria Luiza	—	< 0,01	—
	Tintureira	< 0,01	—	—
Bertioga	Cação-Martelo	< 0,01	—	—
	Espada	—	0,07	—
Farol da Moela/ Monte do Trigo	Pão-de-Ló	0,00	—	—
	Corvina	0,01	—	—
Ilhota do Monte do Trevo	Cação	—	—	0,01
	Bertioga-Canal	—	—	0,02
Guarujá (Perequê e Laje do Perequê)	Ostras	—	—	0,02
	Ostras	—	—	0,02
	Camarão	—	—	< 0,01
	Tainha	—	< 0,01	—
	Bagre	< 0,01	—	—
	Betara	< 0,01	—	—
	Bagre	—	0,01	—
	Salteira	—	< 0,01	—
	Sororoca	—	—	0,01
	Espada	—	—	< 0,01
Praia do Guarujá	Pescada	—	—	0,01
	Camarão	0,00	< 0,01	0,01
	Salteira	—	< 0,01	—
	Camarão	—	< 0,01	—
Guarujá Astúrias (Farol da Moela)	Corvina	< 0,01	—	—
	Cação-Martelo	< 0,01	—	—
	Pescada	< 0,01	—	—
	Mexilhão	0,00	—	—
	Cação-Machote	< 0,01	—	—
Praia Grande, Boquei- rão da Praia Grande (até 6 km Sul)	Corvina	< 0,01	—	—
	Bagre	< 0,01	—	—
	Camarão	< 0,01	< 0,01	—
	Salteira	0,00	0,02	—
	Cação-Martelo	—	0,01	—
	Parati	—	—	0,01
	Porquinho	—	—	0,01
Cidade Ocian	Camarão	—	—	0,01
	Cação	—	—	0,02
	Salteira	—	< 0,01	—
	Tainha	—	< 0,01	—
	Corvina	0,00	< 0,01	—
	Miraguaia	0,01	—	—
	Pescada	0,01	—	—
	Corvina	0,01	—	—
	Perna-de-Moça	< 0,01	—	—
	Cação-Martelo	0,00	—	—
Mar Pequeno de São Vicente e Praia de São Vicente	Espada	—	—	0,01
	Tainha	—	< 0,01	< 0,01
	Parati	0,00	< 0,01	< 0,01
	Miraguaia	—	—	< 0,01
	Obeva	—	—	< 0,01
	Robalo	< 0,01	0,02	< 0,01
	Salteira	—	—	< 0,01
	Caratinga	0,00	—	0,00
	SUDEPE (Barra/Itaipu)	Pescadinha	0,00	—
Espada	0,15	—	—	
COMPESCA Rio Branco (Pedro Taques/ Anchieta)	Camarão	0,00	—	—
	Camarão	< 0,01	—	—
	Siri	—	< 0,01	—
	Caranguejo	0,02	< 0,01	—

O sinal (—) indica que não foram colhidos produtos da espécie nesta amostragem.

TOLEDO, M.; SAKUMA, A.M. & PREGNOLATTO, W. — Aspectos da contaminação por cádmio em produtos do mar coletados no Estuário de Santos, Baía da Guanabara e Baía de Todos os Santos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):15-24, 1983.

TABELA 2

Níveis de cádmio em 57 amostras de espécies marinhas da Baía de Guanabara, RJ

Local da colheita	Produto	Níveis de cádmio mg/kg de peso úmido		
		1. <sup>a</sup> amostragem abril/1978	2. <sup>a</sup> amostragem agosto/1978	3. <sup>a</sup> amostragem outubro/1978
Praia de Tubiacanga	Robalo	0,00	—	—
	Badejo	0,00	—	—
	Enchova	0,00	0,01	—
	Carapicu	0,08	—	—
	Papa-Terra	0,00	—	—
	Corvinota	0,00	—	0,01
	Corvinota	—	—	< 0,01
	Cocoroca	0,00	—	—
	Tainha	0,00	0,02	—
	Pescadinha	0,00	—	< 0,01
	Pescadinha	—	—	0,01
	Enxada	0,06	—	—
	Kaenha	0,00	—	—
	Pirauma	< 0,01	—	—
	Siri	—	< 0,01	< 0,01
	Corvina	—	< 0,01	—
Parati	—	0,07	—	
Praia de Ramos	Pirauma	0,00	—	—
	Robalete	0,00	—	—
	Cocoroca	0,00	—	—
	Corvinota	0,00	—	—
	Caratinga	0,00	—	—
Ilha do Governador	Carapeva	0,00	—	—
	Sardinha	0,11	—	—
Mauá	Corvina	—	0,01	—
	Tainha	—	0,01	—
	Siri	—	0,01	—
Ponte Rio-Niterói	Linguado	—	—	0,01
	Tainha	—	0,09	—
	Parati	—	0,05	—
	Pescadinha	—	0,01	—
	Corvina	—	—	0,01
Piedade	Siri-Mirim	—	< 0,01	—
	Camarão	—	< 0,01	—
Rio Guarani	Carangueijo	—	< 0,01	—
	Bagre	—	0,01	—
Ilha de Paquetá	Robalo	—	0,01	—
	Cocoroca	—	—	< 0,01
	Papa-Terra	—	—	0,00
	Pescada	—	—	< 0,01
	Guete	—	—	< 0,01
	Carapicú	—	—	0,01
	Corvinota	—	—	< 0,01
	Sardinha	—	—	< 0,01
Ilha de Pan-Caraíba e vizinhanças	Camarão	—	—	< 0,01
	Pescadinha	—	—	< 0,01
	Canhanha	—	—	0,01
	Enxada	—	—	0,01
	Bagre	—	—	< 0,01
	Siri	—	—	< 0,01
	Camarão	—	—	< 0,01
	Mexilhão	—	—	0,01
	Canto do Rio Icarai	Mexilhão	—	—

O sinal (—) indica que não foram colhidos produtos da espécie nesta amostragem.

TABELA 3

Níveis de cádmio em 31 amostras de espécies marinhas da Baía de Todos os Santos, BA

Local da colheita	Produto	Níveis de cádmio mg/kg de peso úmido	
		1.ª amostragem maio/1978	2.ª amostragem agosto/1978
Acupe	Tainha	0,01	—
	Siri	0,30	—
Rio São Braz	Caranguejo	0,01	—
	Aratu	—	< 0,01
	Siri do Mangue	—	< 0,01
Salinas	Sururu	0,07	0,01
Saubara	Tainha	0,11	—
	Pacu Branco	—	0,01
	Pescada	—	< 0,01
	Ostra	—	0,01
Ilha de Maré	Bebe Fumo	—	0,02
	Tainha	0,05	—
	Siri Bóia	0,25	—
	Cavala	0,01	< 0,01
	Raia	—	0,01
Praia de Itapoã	Vermelho	—	< 0,01
	Robalo	—	0,01
	Bonito	0,03	—
	Guaricema	0,29	—
Coroa de São Bento	Pescada	0,01	—
	Embira	—	< 0,01
	Siri da Coroa	—	0,00
	Xango	—	0,01
São Francisco do Conde	Pescada	—	< 0,01
	Camarão	—	< 0,01
	Cavala	0,01	—
Coroa do França	Tesoura	—	0,00
Coroa do Conde	Camurupim	—	0,01
Ilha de Cajaíba	Caranguejo	—	0,00

O sinal (—) indica que não foram colhidos produtos da espécie nesta amostragem.

#### *Limpeza do material*

Lavar todo o material com ácido nítrico 8N e enxaguar com água desmineralizada.

#### *Procedimento*

Pesar exatamente cerca de 50 g da amostra em cápsula de sílica, secar em estufa a 100°C, por 4 horas. Colocar na mufla e aumentar lentamente a temperatura até 200°C para prevenir ignição. Incinerar em mufla até 450°C durante a noite toda<sup>5</sup>. Se a cinza não ficar branca, esfriar a cápsula, adicionar um pouco de água, evaporar em chapa elétrica e recolocar na mufla. Quando a cinza estiver branca, dissolver com 2 ml de ácido nítrico concentrado. Aquecer em chapa elétrica até a secura. Diluir com 5 ml de água desmineralizada e, em seguida, centrifugar.

Fazer um branco transferindo 2 ml de ácido nítrico concentrado para uma cápsula de sílica e evaporar em chapa elétrica. Dissolver o resíduo em 5 ml de água desmineralizada.

As leituras, no aparelho, das amostras e do branco devem ser feitas nas condições descritas, usando-se os padrões adequados. Entre uma amostra e outra, aspirar água e ler o padrão zero. Usar a mesma curva-padrão para, no máximo, 10 amostras.

## RESULTADOS

Para um melhor estudo estatístico, haveria necessidade de se amostrar sempre pescado da mesma espécie, o que não foi possível pelo fato de terem sido as coletas efetuadas em diferentes estações de um mesmo ano. No caso da Baía de Todos os Santos, somente foram realizadas duas amostragens, devido a problemas com o financiador.

As figuras 1 e 2 mostram gráficos de frequência e frequência relativa dos níveis de cádmio nas 161 amostras analisadas, independentemente da origem (p. 20).

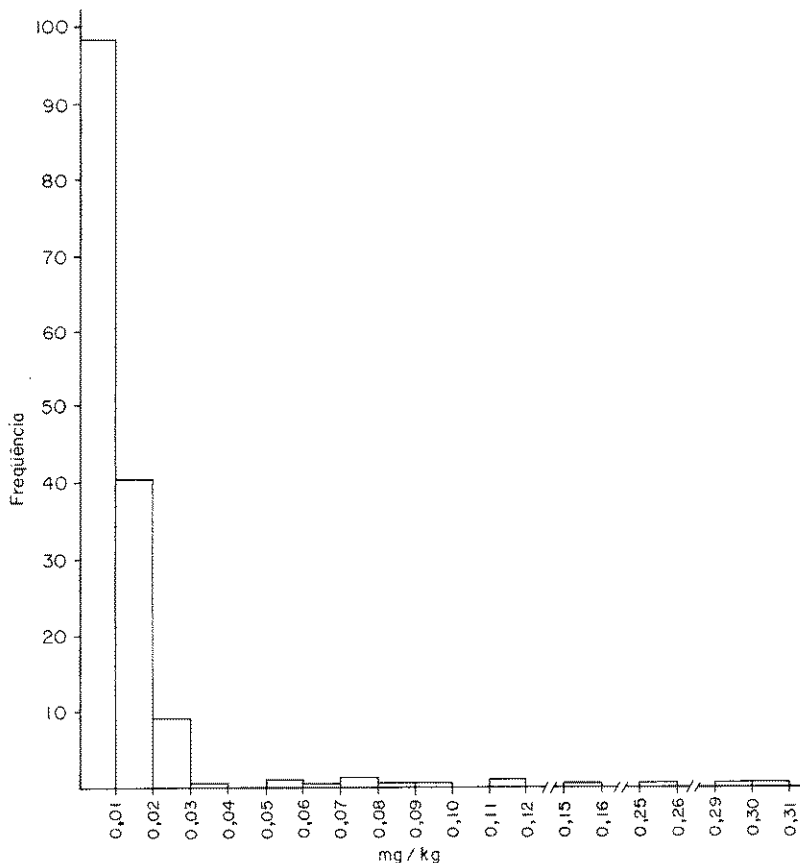


FIGURA 1 — Níveis de cádmio encontrados no total das 161 amostras analisadas.

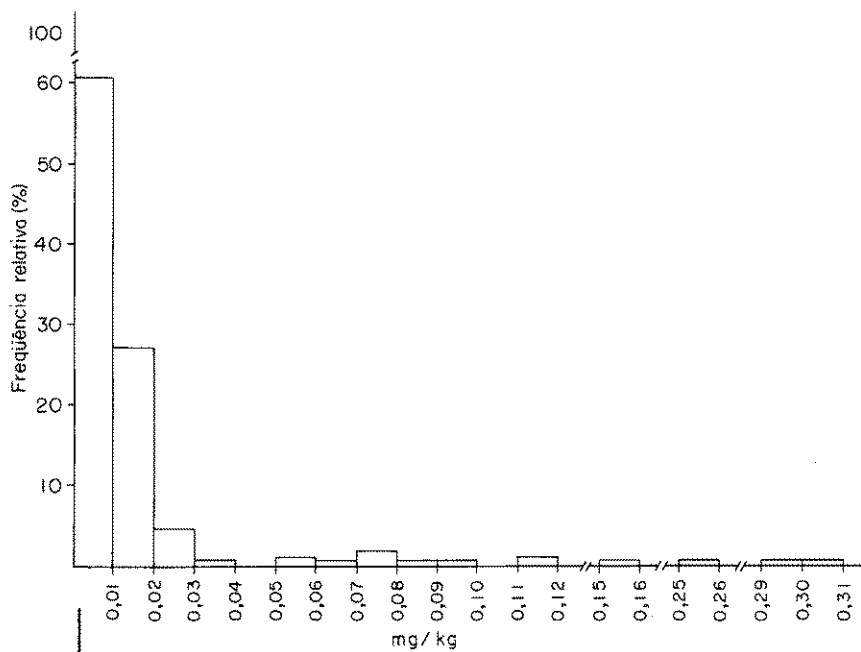


FIGURA 2 — Frequência relativa dos níveis de cádmio no total das 161 amostras analisadas.

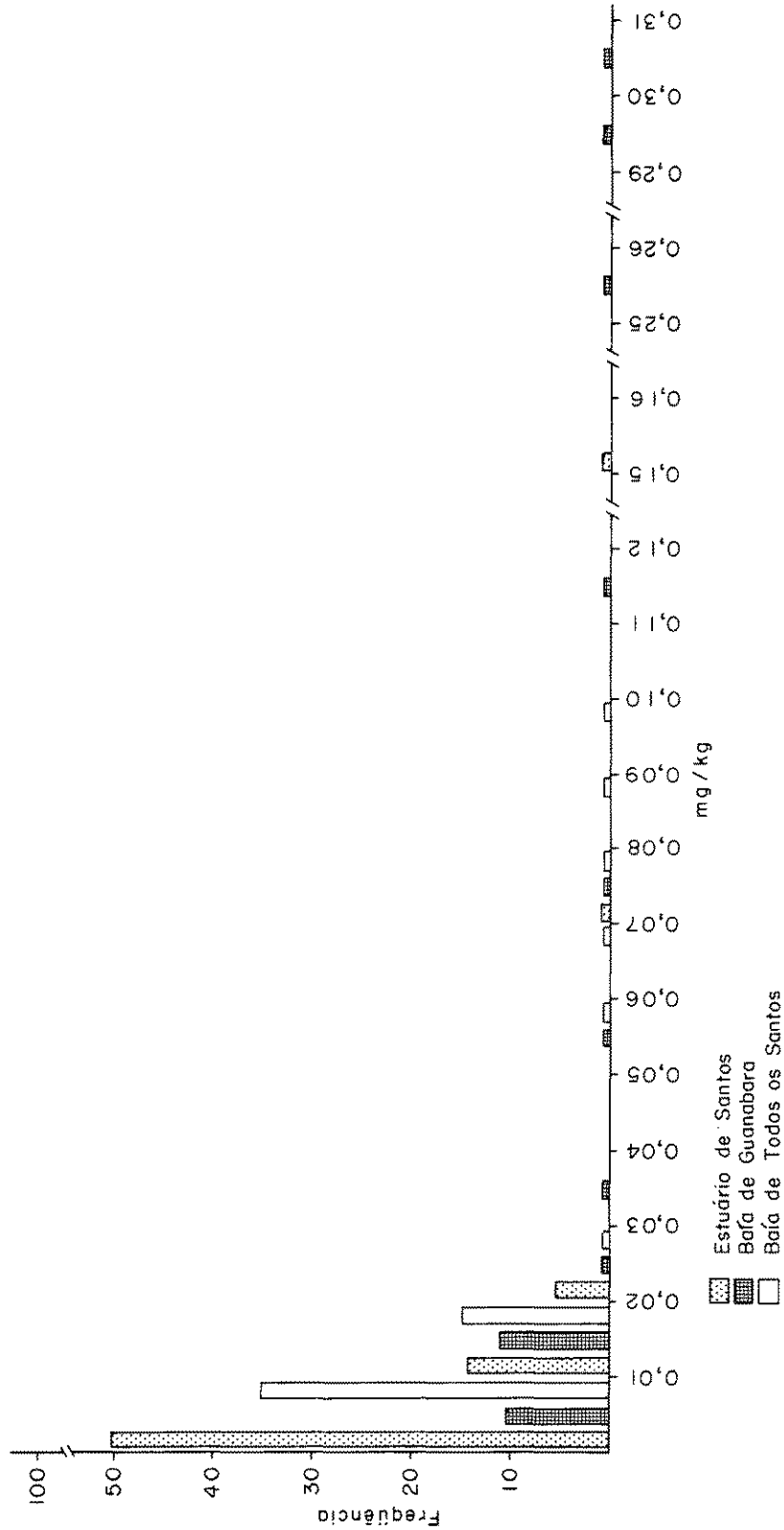


FIGURA 3 — Gráfico comparativo de níveis de cádmio nas 161 amostras analisadas.

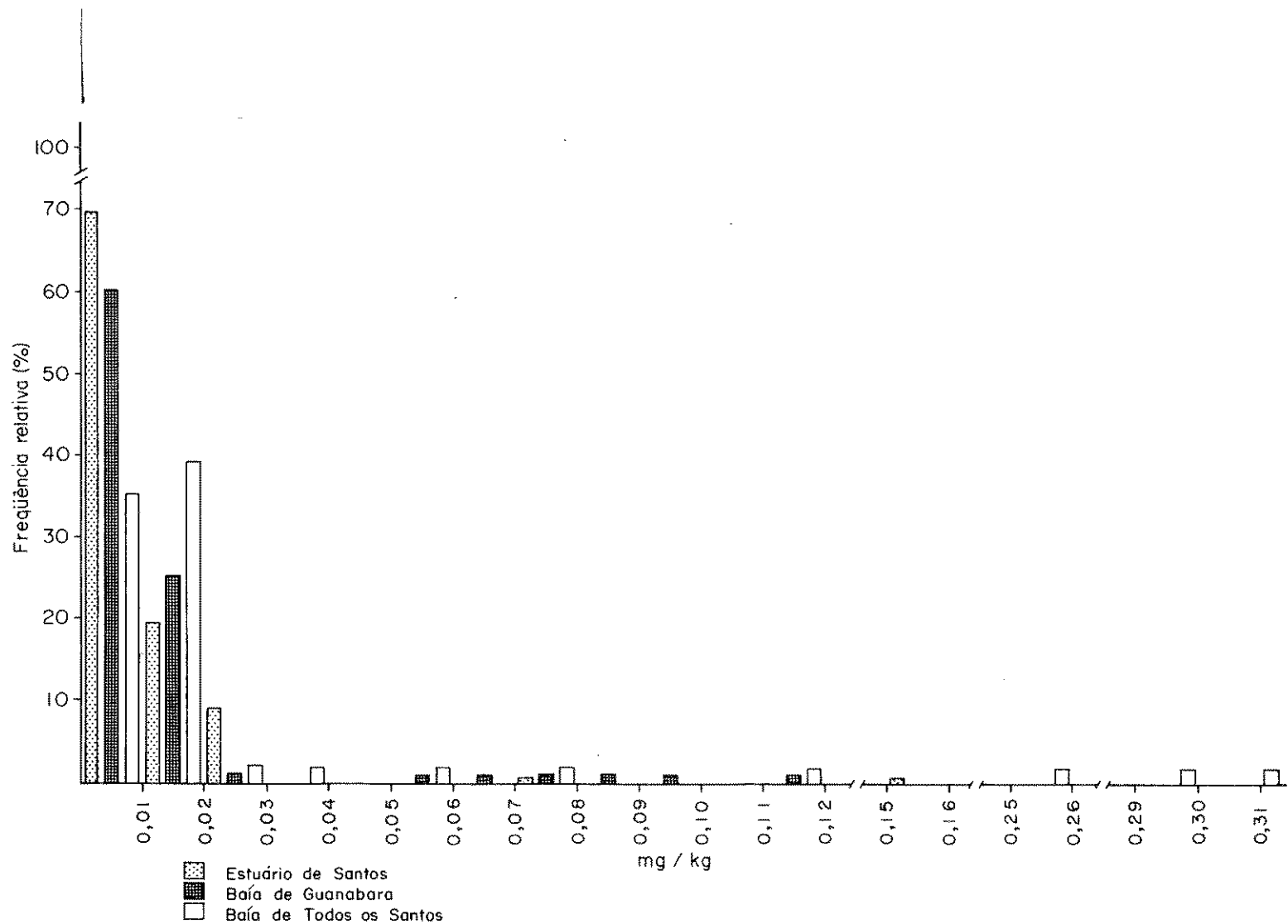


FIGURA 4 — Gráfico comparativo de frequência relativa dos níveis de cádmio nas 161 amostras analisadas (Estuário de Santos, 73 amostras; Baía da Guanabara, 57 amostras; e Baía de Todos os Santos, 31 amostras).

TOLEDO, M.; SAKUMA, A.M. & PREGNOLIATO, W. — Aspectos da contaminação por cádmio em produtos do mar coletados no Estuário de Santos, Baía da Guanabara e Baía de Todos Santos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):16-24, 1988.

As figuras 3 e 4 mostram os gráficos comparativos de frequência e frequência relativa dos níveis de cádmio nas 161 amostras analisadas no Estuário de Santos, Baía de Todos os Santos e Baía da Guanabara (p. 21-22).

No Estuário de Santos (fig. 4), 90% das 73 amostras analisadas tem valor menor que 0,03 mg/kg. O valor máximo encontrado foi de 0,15 mg/kg. A mediana está entre os valores detectados (menor que 0,01 mg/kg). Não foi detectado cádmio em 12 amostras.

Na Baía da Guanabara, 90% das 57 amostras analisadas tem valor menor que 0,06 mg/kg. O valor máximo encontrado foi de 0,11 mg/kg. A mediana está entre os resultados detectados (menor que 0,01 mg/kg). Não foi detectado cádmio em 16 amostras.

Na Baía de Todos os Santos, 90% das 31 amostras analisadas tem valor menor que 0,12 mg/kg. O valor máximo encontrado foi de 0,30 mg/kg de cádmio. A mediana encontrada é 0,01 mg/kg. Não foi detectado cádmio em 3 amostras.

## DISCUSSÃO

A Comissão das Comunidades Europeias<sup>2</sup> publicou resultados dos teores de cádmio em alguns alimentos de várias partes do mundo. Entre os resultados de cádmio em amostras de peixe, há valores abaixo de 0,07 mg/kg (peso úmido) no Reino Unido, Bélgica, Noruega, Finlândia e Nova Zelândia. Valores de até 1,67 mg/kg em músculos de vários peixes do Reino Unido e valores de até 0,6 mg/kg em peixes da Europa. Para ostras há valores de até 7,8 mg/kg nos Estados Unidos; de até 34,5 mg/kg na Tasmânia e, em ostras enlatadas, de até 3,31 mg/kg na Nova Zelândia. Para caranguejos há valores de até 22 mg/kg em amostras da Europa e 33,1 mg/kg em amostras do Reino Unido.

No "Summary and assessment of data received from the FAO/WHO Collaborating Centres for Food Contamination Monitoring"<sup>6</sup>, 1982, há dados de níveis de cádmio, em amostras coletadas em diferentes águas, tão altos quanto 18 mg/kg na parte comestível do corpo de crustáceos. Dados dos Estados Unidos, em vários tipos de crustáceos, mostram níveis com mediana de 0,11 a 0,25 mg/kg<sup>6</sup>.

Dados do Reino Unido e dos Estados Unidos, para vários tipos de camarão, mostram níveis com mediana que varia de 0,01 a 0,30 mg/kg.

Dados da Irlanda, Japão e Suíça, em crustáceos frescos, mostram níveis de mediana na região de 0,01 a 0,10 mg/kg.

ECHEGARAY & SHANG-SAY<sup>4</sup>, no Peru, encontraram valores de cádmio em espécies marinhas industrializadas, de até 0,11 mg/kg.

No Brasil, teores de cádmio em peso úmido obtidos pela Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental, em quatro campanhas realizadas entre 1979 e 1980, na Baía de Todos os Santos e Estuários de Santos e São Vicente, mostraram que, de 124 amostras de músculo de peixe analisadas, 122 estavam com valor menor que 0,13 mg/kg. O valor máximo encontrado foi de 0,41 mg/kg. Em ostras *Crassostrea rhizophorae*, num total de 28 amostras analisadas, 25 tiveram valor menor que 0,13 mg/kg. O valor máximo encontrado foi de 0,43 mg/kg. As 24 amostras de marisco *Perna perna* analisadas estavam com valores inferiores a 0,13 mg/kg<sup>3</sup>. Todos os valores encontrados estão bem abaixo dos valores permitidos pela legislação vigente<sup>1</sup>.

No presente trabalho foram analisadas muito poucas amostras de crustáceos e moluscos. Para crustáceos (siri, camarão e caranguejo), na Baía da Guanabara, num total de 9 amostras, tivemos um valor máximo de 0,01 mg/kg de cádmio, e mediana, do valor detectado, menor que 0,01 mg/kg. No Estuário de Santos, num total de 16 amostras de crustáceos, tivemos o valor máximo de 0,02 mg/kg e mediana entre os valores detectados menor que 0,01 mg/kg. Na Baía de Todos os Santos, num total de 8 amostras de crustáceos, tivemos um valor máximo de 0,30 mg/kg de cádmio e mediana, entre os valores detectados, menor que 0,01 mg/kg. Para moluscos, na Baía de Todos os Santos, encontramos um valor máximo de 0,07 mg/kg.

## CONCLUSÃO

Neste trabalho, os níveis mais altos de cádmio foram encontrados em amostras coletadas na Baía de Todos os Santos, valor máximo 0,30 mg/kg, devido presumivelmente a uma fonte poluidora.

Comparando nossos resultados com os da literatura consultada, e levando em conta o limite tolerável de 1 mg de cádmio/kg para outros alimentos<sup>1</sup>, estabelecido pelo Decreto Federal 55.871, de 26/3/1965, parece-nos ser bastante boa a situação dos produtos do mar nas regiões estudadas, com relação à contaminação por cádmio. Essa comparação, porém, não nos permite uma análise rigorosa do problema, pois os diferentes dados não foram obtidos por uma mesma metodologia analítica. É indispensável, portanto, um número maior de dados, obtidos por um mesmo método, que nos permitam chegar a resultados analíticos comparáveis.

TOLEDO, M.; SAKUMA, A. M. & FREGNOLATTO, W. — Cadmium as a contaminant of sea foods from the bays of Santos, Rio de Janeiro and Todos os Santos, in Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):15-24, 1983.

ABSTRACT: Atomic absorption spectrophotometry was employed for determination of the cadmium content of sea foods obtained in three places of Brazil's seashore: the bays of Santos (state of São Paulo), Guanabara (state of Rio de Janeiro) and Todos os Santos (state of Bahia). Less than 0.03 mg/kg of cadmium was found in 90% of 161 samples of which 85.7% was  $\leq$  0.01 mg/kg. The mineralization of samples was made by dry-ashing.

DESCRIPTORS: cadmium traces, detection in fish, oysters, crustacean; fish, oysters, crustacean, cadmium detection; atomic absorption spectrophotometry.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Leis, decretos, etc. Decreto n.º 55.871 de 26 mar. 1965. *Diário Oficial*. Brasília, 9 abr. 1965. Sec. 1, pt. 1, p. 3611. Modifica o Decreto n. 50.040, de 24 jan. 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto n.º 691, de 13 de mar. 1962.
2. COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES — *Criteria (dose/effect relationships) for cadmio*. Report of a Working Group of Experts. Oxford, Pergamon press, 1978. 202 p. [EUR 5697]
3. COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL — *Metais pesados no Estuário e Baía de Santos*. [São Paulo] 1980. 75 p.
4. ECHEGARAY, R. M. & CHANG-SAY, Y., J. — Contenido de algunos metales pesados en especies marinas peruanas. *Rev. Salud Ocupac.*, 18:5-24, 1973.
5. FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION — *Methods of sampling and analysis of contaminants in food*. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Rome, 1976. Rome, FAO/WHO, 1976. [FAO Food Control Series n. 3 / WHO Food Control n. 3]
6. GLOBAL ENVIRONMENTAL MONITORING SYSTEM. Joint FAO/WHO Food and Animal Feed Contamination Programme — *Summary and assessment of data received from the FAO/WHO Collaborating Centres for Food Contamination Monitoring*. Uppsala, National Food Administration, 1982. p. 41-43.
7. HOENING, M.; LIMA, C. & DUPIRE, S. — Validity of the AAS determination of Cd, Co, Cr, Ni and Pb in animal tissues, especially in fish and fish organs. *Analisis*, 10(3):132-9, 1982 apud *Food Sci. Technol. Abst.*, 15(3): 189, 1983. [3 R 251]
8. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH OF CANCER — *Evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man; Cd, Ni, some epoxides, miscellaneous, industrial chemicals and general considerations on volatile anaesthetics*. Lyon, IARC, 1976. v. 2, p. 39-74. [IARC monogr. n. 2]
9. ITALIA. Leis, decretos etc. — Decreto ministeriale 14 dicembre 1971. G.U. n. 328 del 28 dicembre 1971. Lex 1971, parte 1, pag. 4050. Limite di contaminazione da mercurio del pesce e degli altri prodotti alimentari della pesca di provenienza estera.
10. SOMMERS, E. — The toxic potential of trace metals in foods. A review. *J. Food Sci.*, 39:215-7, 1974.
11. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva, 1972. *Evaluation of mercury, lead, cadmium and the food additives amaranth, diethylpyrocabonate, and octyl gallate*. Geneva, WHO, 1972. p. 51-66. [WHO Food Additives Ser. n. 4]



## EFEITOS DO JEJUM E DA TEMPERATURA EM LABORATÓRIO NA INFECTIVIDADE DE TRIATOMÍNEOS POR *TRYPANOSOMA CRUZI\**

José Eduardo TOLEZANO \*\*  
Maria de Fátima Lerenó de ARAÚJO \*\*\*  
Suzel Scalón RIBEIRO \*\*\*  
Maria Marcia Imenes ISHIDA \*\*\*

RIALAG/555

TOLEZANO; J.E.; ARAUJO, M.F.L.; RIBEIRO, S.S. & ISHIDA, M.M.I.  
— Efeitos do jejum e da temperatura em laboratório na infectividade de triatomíneos por *Trypanosoma cruzi*. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 43(1/2):25-32, 1983.

RESUMO: A tentativa de padronização de alguns parâmetros que envolvem a realização do xenodiagnóstico, levou os autores do presente trabalho a estudarem a influência do tempo de jejum e da temperatura de criação em laboratório sobre a evolução do *T. cruzi* em *Triatoma infestans*, assim como, sobre a própria evolução dos estádios ninfais destes artrópodes. Estudaram também, a quantidade de sangue ingerido por tais insetos quando mantidos em diferentes temperaturas e períodos de jejum. Foram utilizados quatro lotes de 50 ovos cada. Os lotes 1 e 2 foram mantidos em temperatura constante ( $28^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) e umidade relativa do ar de 70-80%; os lotes 3 e 4 ficaram em temperatura ambiente ( $19-31^{\circ}\text{C}$ ), variando a umidade livremente de acordo com as condições climáticas. Os lotes de números ímpares tiveram repastos quinzenais e os lotes de números pares, repastos mensais. Entre o 3.º e o 4.º estádios evolutivos, os barbeiros tomaram repasto contaminado com *T. cruzi*. Observou-se que a temperatura influenciou no tempo de eclosão e desenvolvimento, que foi maior em temperatura ambiente. Quanto ao jejum, verificou-se que tem uma importância menos acentuada sobre a evolução dos triatomíneos, porém, influenciou decisivamente na mortalidade e na infectividade, pois, quanto maior era o tempo de abstinência de alimento, menor a quantidade de sangue sugado.

DESCRITORES: *Triatoma infestans*, crescimento, influência do jejum e da temperatura em laboratório; *Triatoma infestans*, infecção experimental por *Trypanosoma cruzi*; *Trypanosoma cruzi*.

### INTRODUÇÃO

Fundamentalmente a hemocultura e o xenodiagnóstico são os métodos mais utilizados ou aconselhados para o diagnóstico parasitológico da doença de Chagas em sua fase crônica.

Na literatura encontram-se relatos sobre estudos efetuados com hemocultura que mostram resultados os mais variáveis possíveis,

desde a positivação de 100% dos casos<sup>1</sup>, até o resultado verificado por FREITAS<sup>10</sup>, em 1947, que não conseguiu positivar nenhuma das 37 culturas efetuadas em meios de McNeal, Novy & Nicolle (NNN) e de Bonacci. Tais variações podem até ser explicadas pelas diferentes modificações já propostas para esta técnica.

Quanto ao xenodiagnóstico, desde que BRUMPT<sup>4</sup>, em 1914, mostrou a possibilidade

\* Realizado na Seção de Parasitoses Sistêmicas do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

\*\*\* Bolsista do Instituto Adolfo Lutz.

de utilização deste método no diagnóstico de moléstias parasitárias e, em particular, no da doença de Chagas, por intermédio do próprio vetor do agente causal da enfermidade, ou através da utilização de outras espécies vicárias que pudessem assegurar a evolução do parasita, diversos estudos têm sido realizados na tentativa de demonstrar<sup>6, 7, 21, 22, 23</sup> ou mesmo melhorar<sup>2, 10, 11</sup> a eficiência deste procedimento laboratorial. Este método a que BRUMPT chamou de "cultura natural em hospedeiro favorável" é sem dúvida o de maior emprego para o diagnóstico parasitológico na fase crônica da tripanosomíase americana, apesar dos inconvenientes de baixa eficiência da técnica, demora do resultado, necessidade de contato do barbeiro com o paciente, necessidade de criação de triatomíneos em laboratório etc.

RASSI *et alii*<sup>22</sup>, mesmo reconhecendo que o xenodiagnóstico deva ser o método de escolha para o diagnóstico da fase crônica da parasitose, dizem que os percalços ligados a esta técnica seriam reflexo de falta de padronização adequada. Em vista disso, e na tentativa de padronização de alguns parâmetros que envolvem a realização do xenodiagnóstico, os autores do presente trabalho estudaram a influência do tempo de jejum e da temperatura de criação em laboratório sobre a evolução do *T. cruzi* em triatomíneos, assim como, sobre a própria evolução dos estádios ninfais destes artrópodes. Estudaram, também, a quantidade de sangue ingerido por tais insetos, quando mantidos em diferentes temperaturas e períodos de jejum.

## MATERIAL E MÉTODOS

Antes de iniciar o experimento foram realizadas observações para determinação dos períodos de jejum a serem testados pela pesquisa. Assim, verificou-se o desenvolvimento ninfal de *Triatoma infestans* quando se lhes oferecia alimento duas vezes por semana, uma vez por semana, cada duas semanas ou cada mês. Não se notando nos três primeiros intervalos de tempo entre repastos grandes variações no tempo médio para evolução desses barbeiros até um estágio em que pudessem ser utilizados para o xenodiagnóstico (entre 3.º e 4.º estágio de desenvolvimento), optou-se por realizar a experiência com lotes alimentados quinzenalmente e lotes alimentados mensalmente.

Utilizaram-se quatro lotes, cada um com 50 ovos de *Triatoma infestans*, selecionados ao acaso do insetário de criação de triatomíneos da Seção de Parasitoses Sistemáticas do Instituto Adolfo Lutz, todos coletados no dia da desova. Esses 50 ovos foram subdivididos em dois frascos por lote, para evitar acúmulo de fezes, o que acarretaria morte das ninfas por afogamento em seus dejetos.

O lote 1 foi alimentado quinzenalmente e mantido em temperatura constante (28°C ±

2); o lote 2, mantido à mesma temperatura, foi alimentado a cada 30 dias. Os lotes 3 e 4 foram mantidos à temperatura ambiente (variando entre 19 e 31°C) e alimentados a cada 15 e 30 dias, respectivamente. Nos lotes 1 e 2 a umidade relativa do ar esteve constante em 70-80%, como aconselham NICOLLE & LWOLFF<sup>17</sup>; nos demais variou livremente, refletindo as condições ambientais.

Foram efetuadas pesagens dos barbeiros antes e após cada repasto, utilizando-se balança analítica Mettler H35AR, com capacidade de pesagem de 0,1 mg a 160 gramas.

O repasto alimentar foi padronizado para durar 60 minutos para todos os lotes, pelo oferecimento de sangue de coelho, administrado de forma semelhante à preconizada para o xenodiagnóstico artificial<sup>18</sup>. O último repasto sanguíneo, realizado entre o 3.º e o 4.º estádios ninfais nos lotes 1, 2 e 3 e, entre o 2.º e o 3.º estádios de desenvolvimento, no lote 4, consistiu em sangue de coelho, contaminado com a adição de aproximadamente  $1,6 \times 10^4$  formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* por centímetro cúbico de sangue oferecido.

As condições a que foram submetidos os diferentes lotes no que se refere a temperatura, jejum e período escolhido para contaminação procuraram reproduzir as condições que, em regra, são utilizadas para criação dos triatomíneos e realização do xenodiagnóstico nos diversos laboratórios que mantêm tais atividades; a época do repasto com *T. cruzi* correspondeu aos estádios de preferência para a aplicação do xenodiagnóstico.

A cepa de *Trypanosoma cruzi* utilizada foi a cepa Y, mantida há mais de 15 anos, por repiques em meio de Ducrey, pela Seção de Coleção de Culturas do Instituto Adolfo Lutz.

Efetuada a alimentação contaminada, realizaram-se até quatro leituras desses "xenodiagnósticos" respectivamente 20, 30, 60 e 90 dias após o repasto com *T. cruzi*. Em alguns exemplares foi feita dissecação do inseto.

## RESULTADOS

Os resultados permitem observar que ovos de triatomíneos, quando mantidos em temperatura ambiente, apresentam tempo de eclosão significativamente superior ao verificado para ovos submetidos a temperatura controlada.

Assim, nos lotes 3 e 4 o tempo de eclosão máximo foi de até 46 dias, enquanto nos lotes 1 e 2 não superou 17 dias.

As taxas de eclosão também variaram conforme a temperatura: 68% quando os ovos foram mantidos em temperatura ambiente e 97% para os que permaneceram em temperatura constante. Fenômeno semelhante ocorreu com o desenvolvimento ninfal.

Os dados expressos na figura indicam que as condições impostas ao lote 1 parecem ser as mais favoráveis para um rápido desenvolvimento até o estágio preferencial de uso dos triatomíneos no xenodiagnóstico, sugerindo que em temperatura ambiente existiria necessidade de maior número de repastos sanguíneos para evolução larval.

A tabela 1 mostra que os insetos do lote 1 sugaram maior quantidade de sangue que os dos outros lotes. Nos lotes 3 e 4 não foram precisos mais repastos e sim maior espaço de tempo para se realizarem os processos metabólicos de digestão e muda.

Pela tabela 2 observa-se que o tempo de desenvolvimento ninfal sofre maior efeito da temperatura, na medida em que se verifica nos lotes 3 e 4, mantidos a temperatura ambiente, necessidade de mais dias para atingir estádios mais avançados. Com relação ao jejum, nota-se importância menos acentuada sobre a evolução dos barbeiros.

Os valores de mortalidade nos lotes 1 e 2 (45,36%), comparados com os dos lotes 3 e 4 (44,12%) refletem a pouca importância da temperatura sobre este parâmetro. Quando comparado o lote 1 ao lote 2, ambos mantidos em condições controladas, vê-se que a taxa de sobrevivência foi em função do jejum, alcan-

çando 70,0% e 38,3%, respectivamente, até a realização do repasto contaminado. Já para os lotes 3 e 4 o jejum determina mortalidade de 47,05% e 41,18%, respectivamente. Deve porém ser ressaltado que ficou a impressão de ter havido interação do jejum e da temperatura na determinação da mortalidade do lote 4, fato não comprovado justamente por temer-se a perda de todo o grupo, pois no momento em que os insetos se encontravam ainda entre o 2.º e o 3.º estádios, apresentavam aspecto de sofrimento, o que provocou antecipação do repasto contaminado com *Trypanosoma cruzi*.

Pela tabela 3 vê-se maior positividade para infecção por *T. cruzi* nas condições a que foram expostos os elementos do lote 1. Os resultados dos lotes 2, 3 e 4, por sua vez, mostram relativa semelhança. Levando-se em consideração comparação dos valores de infectividade em função de temperatura, tem-se 82,18% (lotes 1 e 2) para os insetos em ambiente controlado contra 62,23% (lotes 3 e 4) dos reduvídeos em temperatura ambiente; já a confrontação da positividade ao *T. cruzi* em função do jejum revela a 28°C 100% (lote 1) contra 64,35% (lote 2) e, na temperatura do laboratório, 66,67% (lote 3) contra 57,89% (lote 4).

TABELA 1

Média dos pesos das ninfas antes e após cada repasto sanguíneo

Repasto \ Peso (g)	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4
Antes do 1.º	0,0013	0,0013	0,0009	0,0009
Após o 1.º	0,0045	0,0044	0,0032	0,0034
Antes do 2.º	0,0027	0,0027	0,0025	0,0022
Após o 2.º	0,0099	0,0099	0,0032*	0,0027*
Antes do 3.º	0,0048	0,0037	0,0028	0,0023
Após o 3.º	0,0117	0,0068	0,0026*	0,0095
Antes do 4.º	0,0057	0,0044	0,0024	0,0060
Após o 4.º	0,0358	0,0256	0,0100	0,0208***
Antes do 5.º	0,0149	0,0093	0,0062	—
Após o 5.º	0,0885**	0,0432**	0,0146	—
Antes do 6.º	—	—	0,0114	—
Após o 6.º	—	—	0,0441**	—

\* Alimentação recusada.

\*\* Repasto contaminado com aproximadamente  $1,6 \times 10^4$  forma epimastigota de *T. cruzi* por mililitro de sangue.

\*\*\* Repasto contaminado antecipado para evitar perda do lote.

— Não houve repasto.

TABELA 2

*Influência do jejum e da temperatura sobre a mortalidade do Triatoma infestans*

Lote 1			Lote 2			Lote 3			Lote 4		
Repasto	Total ninfas vivas	Mortalidade %	Repasto	Total ninfas vivas	Mortalidade %	Repasto	Total ninfas vivas	Mortalidade %	Repasto	Total ninfas vivas	Mortalidade %
1.º	50*	—	1.º	47*	—	1.º	34*	—	1.º	34*	—
2.º	45	10,0	**	41	12,76	2.º	33	2,94	**	31	8,82
3.º	41	18,0	2.º	34	27,65	3.º	25	26,47	2.º	24	29,41
4.º	37	26,0	**	29	38,3	4.º	22	35,29	**	23	32,33
5.º	35***	30,0	3.º	24	48,03	5.º	22	35,29	3.º	22	35,29
—	—	—	**	22	53,2	6.º	18***	47,05	**	21	38,24
—	—	—	4.º	19	59,57	—	—	—	4.º	20****	41,18
—	—	—	**	18	61,7	—	—	—	—	—	—
—	—	—	5.º	18***	61,7	—	—	—	—	—	—

\* Ninfas que eclodiram do total de 50 ovos selecionados para o lote.

\*\* Período correspondente a 15 dias antes do repasto seguinte.

\*\*\* Repasto contaminado com *T. cruzi*

\*\*\*\* Repasto contaminado com *T. cruzi*, antecipado para evitar a perda do lote.

— Não houve repasto.

TABELA 3

Porcentagem de positividade observada para cepa Y de *Trypanosoma cruzi* após oferta de alimento contaminado com aproximadamente  $1,6 \times 10^4$  formas epimastigotas para as ninfas de *Triatoma infestans* \*

Leitura do xenodiagnóstico	Positividade %	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4
	1. <sup>a</sup> Leitura (20 dias)		29,03	50,0 **	55,55***
2. <sup>a</sup> Leitura (30 dias)		41,15	52,94	58,82	57,89****
3. <sup>a</sup> Leitura (60 dias)		52,36	64,35	66,67	—
4. <sup>a</sup> Leitura (90 dias)		100,0	—	—	—

\* Ninfas positivas em uma leitura passavam a ser assim consideradas na contagem total dos positivos, mesmo que mortas quando de leitura posterior, isto para cálculo de percentagem total de positividade para *T. cruzi* no lote estudado.

\*\* Algumas ninfas foram positivadas pelo exame por dissecação.

\*\*\* Todas as ninfas positivas foram examinadas por dissecação.

\*\*\*\* Todas as ninfas negativas foram examinadas por dissecação.

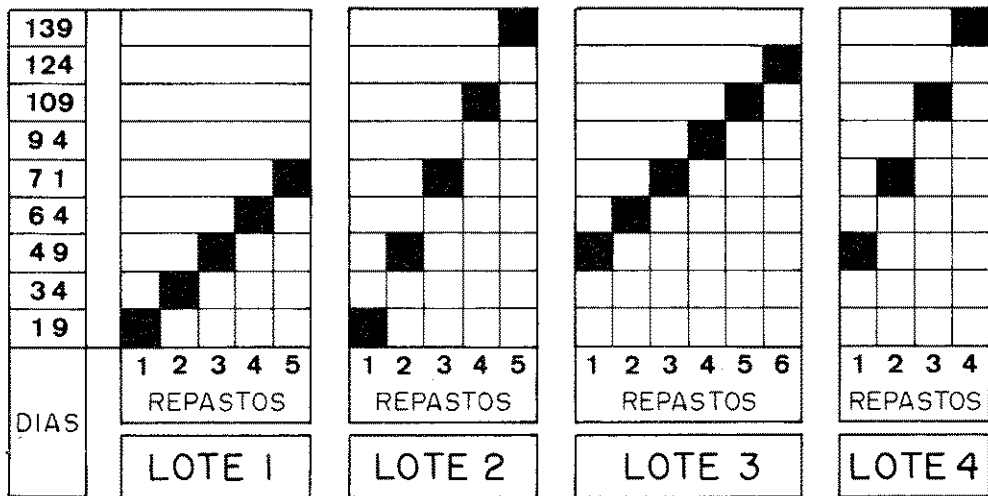


FIGURA — Comparação entre os diferentes lotes testados, quando considerados os dias decorridos da fase de ovo até os vários repastos sangüíneos efetuados.

Associando os dados constantes nas tabelas 1, 2 e 3 aos da figura, percebe-se que nos triatomíneos do lote 1 todos os parâmetros mensurados (tempo de desenvolvimento embrionário e ninfal, mortalidade, quantidade de sangue ingerida e taxa de infecção por *T. cruzi*) apresentaram desempenho melhor do que nos demais lotes.

#### DISCUSSÃO

As observações do tempo de eclosão dos ovos mantidos a temperatura ambiente e constante não estão em desacordo com o constatado por outros autores<sup>8, 13, 19 e 20</sup>. A taxa de eclosão de 97% observada em ambiente controlado de temperatura, está próxima dos

80-90% vistos por PERLOWAGORA-SZUMLEVICZ<sup>19</sup>, em temperatura entre 24-28°C, e de taxa mostrada por JUAREZ<sup>14</sup>, com insetos a 25 e 30°C e umidade entre 50-60%.

HACK<sup>13</sup>, em 1955, fala em 69,69% de eclosão em temperatura ambiente de laboratório, enquanto no presente estudo viu-se 68% de eclosão a esta exposição térmica (22-30°C na fase embrionária).

Quanto ao verificado na figura, sobre o retardamento ninfal quando em temperatura ambiente, HACK<sup>13</sup> já fazia menção sobre isto em seus estudos de criação de *Triatoma infestans*; o mesmo afirmou BARRETTO<sup>3</sup>, em 1968, PERLOWAGORA-SZUMLEVICZ<sup>20</sup> mostra que a evolução deve ser mais rápida em exposição à temperatura variável entre

24-28°C; observação idêntica foi feita por JUAREZ<sup>14</sup>, quando os insetos ficavam a 30°C.

O tempo de evolução dos estádios menores para os maiores esteve neste experimento também dependente, porém em menor escala (figura), das oportunidades de efetuar alimentação, quando comparados os lotes mantidos em condições térmicas idênticas. NICOLLE & LWOLFF<sup>17</sup> dizem que barbeiros, sem sugar sangue, não conseguem evoluir, embora DIAS<sup>9</sup>, em 1965, tenha mostrado a ocorrência de uma única muda em alguns insetos mantidos em jejum desde a muda anterior.

A observação de que a variação da temperatura obriga os triatomíneos a terem maiores períodos de tempo para sofrer os processos de digestão e ecdise (tabela 1) não difere da vista em DIAS<sup>9</sup>, que obteve um metabolismo mais rápido em insetos mantidos a temperatura constante.

O jejum, por sua vez, interfere na mortalidade, conforme mostra a tabela 2. Confrontando-se as taxas de mortalidade entre os elementos dos lotes 1 e 2, tem-se 30,0% e 61,7%, respectivamente, para cada lote, que tinham como única diferença o período de tempo entre repastos, até o momento de receberem sangue contaminado com *T. cruzi*.

Mesmo não tendo sido possível concluir sobre a interação de variáveis na determinação da mortalidade nos lotes 3 e 4, julga-se válido ressaltar a inexistência de indícios favoráveis à incriminação da temperatura como fator determinante da mortalidade nos lotes 1, 2 e 3 e, talvez, no lote 4.

É possível mostrar, no entanto, que a infectividade é função de interação das variáveis temperatura e jejum pois, levando-se em consideração o fator térmico, tem-se 82,18% de positividade em ambiente controlado, contra 62,22% na condição de temperatura ambiente, influência já mostrada por NEVES<sup>18</sup>, que falava da manutenção do *T. cruzi* em triatomíneos submetidos a diferentes temperaturas. Quando o jejum é examinado, vê-se ação deste fator sobre a infecção pelo flagelado. Quanto à semelhança dos resultados observada nos lotes 2 e 3, acredita-se que a diferença (10,0%) verificada na positividade do lote 4 em relação aos lotes 2 e 3 é devida ao fato de os insetos deste grupo terem tomado o repasto contaminado entre o 2.º e 3.º estádios evolutivos, o que resultou em quantidade sugada de sangue menor do que a observada nos outros grupos.

Os dados obtidos no presente trabalho permitem afirmar que exemplares de *T. infestans*, criados em temperatura de 28°C, umidade de 70 a 80% e alimentados com intervalos máximos de duas semanas, evoluirão mais rapidamente para estádios que os tornam aptos para uso em xenodiagnóstico, sugando grande quantidade de sangue. JUAREZ<sup>14</sup>, em 1970, mos-

trou que triatomíneos de 2.º e 3.º estádios, quando mantidos a 30°C, sugavam mais sangue do que outros, submetidos a temperatura de 25°C, atribuindo tal fato à aceleração do metabolismo nos insetos mantidos em temperatura mais alta. Este pesquisador sugere, ainda, que o maior aproveitamento do sangue ingerido nos triatomíneos mantidos a temperatura mais elevada seria responsável pela menor necessidade de alimento nos demais estádios evolutivos. No presente trabalho não se pode testar esta hipótese pois os triatomíneos foram observados apenas até o 3.º e 4.º estádios ninfaís.

A rápida evolução do triatomíneo para estádios mais avançados deveu-se, com certeza, ao fato de ter sido permitida alimentação até a saciedade, o que acarretou necessidade de um único repasto sanguíneo, no 1.º e no 2.º estádio, para que estes insetos sofressem ecdise. Isto se assemelha ao observado por NEIVA<sup>15</sup>, em 1914, e GOODCHILD<sup>12</sup>, em 1955, e difere do visto por NICOLLE & LWOLFF<sup>17</sup>, em 1942, e CORREA<sup>5</sup>, em 1962, que registraram mais de uma alimentação em cada estádio; isto talvez por adotarem períodos entre repastos de 3 a 4 dias. SIQUEIRA<sup>24</sup>, em 1968, prefere esperar 15 dias sem alimentar os insetos que seriam utilizados em xenodiagnóstico. É lícito dizer, em concordância com Siqueira, que a melhor eficiência do xenodiagnóstico em comparação aos outros processos de demonstração do parasita (exame a fresco, esfregaço, gota espessa ou hemocultura) seja consequência do maior volume de sangue sugado pelos barbeiros e, daí, esperar-se que a utilização de triatomíneos com capacidade de sugarem maior quantidade de sangue, desde que suscetíveis ao *Trypanosoma cruzi*, acarretará maior possibilidade de reprodução do protozoário no hospedeiro invertebrado.

## CONCLUSÕES

Para as condições adotadas e amostras estudadas é possível concluir:

— A evolução embrionária e ninfa do *Triatoma infestans* sofreu interferência da temperatura em que os insetos foram criados.

— A interferência da temperatura tem reflexos na aceleração ou diminuição do metabolismo do inseto.

— O jejum mostrou uma menor interferência no desenvolvimento, mas influenciou decisivamente na mortalidade.

— Parece ter havido interação destas duas variáveis na determinação da mortalidade dos elementos do lote 4, mantido a temperatura ambiente e períodos mensais de jejum.

— Nos lotes 1, 2 e 3 não foi verificada importância da temperatura para determinação da mortalidade dos barbeiros.

— Quando mantidas as condições de temperatura a 28°C, umidade 70-80% e intervalos de alimentação não superiores a 15 dias, deve-se esperar maior rapidez de desenvolvimento do *T. infestans* até os estádios preferenciais para utilização em xenodiagnóstico.

— A utilização de *T. infestans*, criados nas condições acima citadas, permitirá que estes tenham maior necessidade de sugar sangue, acarretando maior possibilidade de positivação do xenodiagnóstico.

RIALA6/544

TOLEZANO, J.E.; ARAUJO, M.F.L.; RIBEIRO S.S. & ISHIDA, M.M.I. — Effects of fasting and laboratory temperature on the infectivity of *Triatoma infestans* infected with *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):25-32, 1983.

ABSTRACT: A study was made of the influence of fasting and rearing temperature on the evolution of *Trypanosoma cruzi* in *Triatoma infestans*, on the evolution of nymphal stages of these arthropods, and on the amount of blood ingested by the insects maintained at various temperatures and fasting periods. Four lots, each comprising 50 eggs, were employed. Lots 1 and 2 were maintained in an incubator at 28°C ± 2.k and relative humidity of 70-80%. Lots 3 and 4 were left at room temperature of 19°—31°C and relative humidity varying according to environmental conditions. Lots 1 and 3 received nutrients every two weeks while Lots 2 and 4, every month. Between the third and fourth evolutive stages, the insects were fed food containing *T. cruzi*. The temperature influenced the eclosion and growth which were greater at room temperature. Fasting had less influence on the evolution of the triatomids but influenced clearly mortality and infectivity. In fact, the longer the fasting period the lesser the amount of blood ingested.

DESCRIPTORS: *Triatoma infestans*, growth, influence of fasting and laboratory temperature; *Triatoma infestans*, experimental infection by *Trypanosoma cruzi*. *Trypanosoma cruzi*.

#### BIBLIOGRAFIA

1. ALBUQUERQUE, R.D.R.; FERNANDES, L.A.R.; FUNAYAMA, G.K.; FERRIOLI F.ºF. & SIQUEIRA, A.F. — Hemoculturas seriadas com o meio de Warren em pacientes com reação de Guerreiro Machado positiva. *Rev. Inst. Med. trop.*, São Paulo, 14:1-5, 1972.
2. ALMEIDA, S.P.; SHERLOCK, I.A. & FAHEL, E. — Novo procedimento de xenodiagnóstico na forma crônica da doença de Chagas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 74:285-8, 1976.
3. BARRETO, M.P. — Transmissores. In: CANÇADO, J.R., ed. — *Doença de Chagas*. — Belo Horizonte, 1968 p. 202.
4. BRUMPT, E. — Le xénodagnostic. Application au diagnostic de quelques infections parasitaires et en particulier à la Trypanosomose de Chagas. *Bull. Soc. Path. exot.*, 7:706-10, 1914.
5. CORREA, F.M. de A. — Estudo comparativo do ciclo evolutivo do *Triatoma infestans* alimentado em diferentes animais (Hemiptera, Reduviidae). *Pap. Avulsos Dep. Zool.*, São Paulo, 15:177-200, 1962.
6. DIAS, E. — Criação de triatomídeos no laboratório. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 33: 407-12, 1938.
7. DIAS, E. — Técnica do xenodiagnóstico na moléstia de Chagas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 35:335-42, 1940.
8. DIAS, E. — Notas sobre o tempo de evolução de algumas espécies de triatomíneos em laboratório. São Paulo, 1947. 160 p. [Tese — Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo]
9. DIAS, J.C.P. — Observações sobre o comportamento de triatomíneos brasileiros frente ao jejum, em laboratório. *Rev. bras. Malariol. Doenças trop.*, 17:55-63, 1965.
10. FREITAS, J.L.P. — Contribuição para o estudo do diagnóstico da moléstia de Chagas por processos de laboratório. São Paulo, 1947. 160 p. [Tese — Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo]
11. FREITAS, J.P.L. de — Observações sobre o tempo ótimo para o exame de triatomídeos empregados em xenodiagnósticos. *Folia clin. biol.*, 16:180-5, 1950.

TOLEZANO, J.E., ARAUJO, M.F.L.; RIBEIRO, S.S. & ISHIDA, M.M.I. — Efeitos do jejum e da temperatura em laboratório na infectividade de triatomíneos por *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):25-32, 1983.

12. GOODCHILD, A.J.P. — Some observations on growth and egg production of blood-sucking reduviids *Rhodnius prolixus* and *Triatoma infestans*. *Proc. R. entomol. Soc. London*, Ser. A, 30:127-36, 1955.
13. HACK, W.H. — Estudios sobre biología del *Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Hem. Reduviidae). *Ann. Inst. Med. region.*, 4: 125-47, 1955.
14. JUAREZ, E. — Comportamento do *Triatoma infestans* sob várias condições de laboratório. *Rev. Saúde pública*, S. Paulo, 4: 147-66, 1970.
15. NEIVA, A. — Revisão de género *Triatoma* Lap. Rio de Janeiro, Tipografia do Jornal do Comércio, 1914. 80 p.
16. NEVES, D.P. — Influência da temperatura na evolução do *Trypanosoma cruzi* em triatomíneos. *Rev. Inst. Med. trop.*, São Paulo, 13:155-61, 1971.
17. NICOLLE, P. & LWOFF, M. — Recherches sur la nutrition des réduvidés hémophages I. Développement des stades larvaires de *Triatoma infestans* Klug dans les conditions habituelles d'élevage. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 35:219-32, 1942.
18. NUSSENZWEIG, V. & SONNTAG, R. — Xenodiagnóstico artificial. Novo processo. Primeiros resultados positivos. *Rev. paul. Med.*, 40:41-3, 1952.
19. PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, A. — Ciclo evolutivo do *Triatoma infestans* em condições de laboratório. *Rev. bras. Malariol. Doenças trop.*, 5:35-47, 1953.
20. PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, A. — Estudo sobre a biologia do *T. infestans*, o principal vetor da doença de Chagas no Brasil (Importância de algumas de suas características biológicas no planejamento de esquema de combate a esse vetor). *Rev. bras. Malariol. Doenças trop.*, 21: 117-59, 1969.
21. PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, A. — Studies in search of a suitable experimental insect. Model for xenodiagnosis of hosts with Chaga's disease. I. Comparative xenodiagnosis with nine triatomine species of animals with acute infections by *Trypanosoma cruzi*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 77:37-53, 1982.
22. RASSI, A.; AMATO NETO, V. & OLIVEIRA, R.L. — Observações sobre a hemocultura em meio de LIT para *Trypanosoma cruzi* segundo Mourão e Mello (1975). *Rev. Inst. Med. trop.*, São Paulo, 23:57-60, 1981.
23. SCHENONE, H.; ALFANO, E.; REYES, H. & TAUCHER, E. — Valor del xenodiagnóstico en la infección chagásica crónica. *Bol. chil. Parasitol.*, 23:149-54, 1968.
24. SIQUEIRA, A.F. de — Diagnóstico parasitológico. In: CANÇADO, J.R. ed. — *Doença de Chagas*. Belo Horizonte, 1968. p. 261-278.

Recebido para publicação em 23 de janeiro de 1983.



## DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO ERÚCICO EM MOSTARDA DE MESA \*

Franca DURANTE \*\*  
Elza Schwarz Gastaldo BADOLATO \*\*  
Maria Elisa Wohlers de ALMEIDA \*\*

RIALAG/556

DURANTE, F.; BADOLATO, E.S.G. & ALMEIDA, M.E.W. — Determinação de ácido erúcido em mostarda de mesa. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):33-40, 1983.

**RESUMO:** O ácido erúcido, substância de toxicidade já verificada em animais de laboratório, está presente no óleo de semente de mostarda; este fato levou os autores a pesquisarem sua presença em mostarda de mesa. A técnica de cromatografia em fase gasosa foi utilizada para determinar o perfil cromatográfico do óleo de semente de mostarda, extraído de 15 amostras de semente de mostarda, 22 amostras de mostarda de mesa de origem nacional e 11 amostras de mostarda de mesa de origem européia. Foram identificados os seguintes ácidos graxos: palmítico, palmitoléico, esteárico, oléico, linoléico, linolênico, gadolêico, behênico e erúcido. Foi encontrado um alto teor de ácido erúcido, variando de 15,6 a 38,0% em relação aos ácidos graxos totais. O perfil cromatográfico permitiu a identificação rápida do óleo de mostarda como também possibilitou a detecção da adulteração de mostarda de mesa.

**DESCRITORES:** mostarda, óleo de semente, determinação do ácido erúcido; mostarda de mesa (preparada), determinação do ácido erúcido; ácido erúcido, determinação em mostarda, semente, e em mostarda de mesa; ácidos graxos em mostarda, semente, determinação; ácidos graxos em mostarda de mesa, determinação; mostardas, fraudes.

### INTRODUÇÃO

O grande número de trabalhos recentemente publicados sobre a toxicidade do ácido erúcido presente em vegetais, principalmente com referência ao óleo extraído de semente de colza (*Brassica napus*), trouxe-nos a preocupação de verificar a presença deste ácido em mostardas de mesa ou preparadas, considerando que o ácido erúcido faz parte da composição do óleo de semente de mostarda.

A mostarda pertence à família *Cruciferae*, sendo que as espécies mais utilizadas no preparo das mostardas de mesa são: mostarda branca (*Sinapis alba*), mostarda negra (*Brassica nigra*) e mostarda parda (*Brassica juncea*).

O grão inteiro e as sementes da mostarda em pó não possuem aroma e nem sabor característicos; estes aparecem em presença de água ou líquidos ácidos, pois o isotiocianato de alila, composto volátil responsável pelo odor e sabor picantes da mostarda, é liberado a partir do glicósido sinigrina pela ação da enzima mirosinase (SCHMIDT-HEBBEL<sup>15</sup>).

As mostardas preparadas ou mostardas de mesa são produtos de aspecto cremoso obtidos a partir de uma mistura de sementes de mostarda moídas com vinagre ou vinho, sal, açúcar, podendo conter outras especiarias, desde que não encubram o sabor e odor característicos do produto.

As mostardas de mesa, cujo consumo tem aumentado ultimamente devido a novos hábi-

\* Realizado na Divisão de Bromatologia e Química do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

tos alimentares, podem ser fraudadas substituindo-se a semente de mostarda moída por outras especiarias.

*Aspectos toxicológicos do ácido erúico* — a administração de ácido erúico junto com a ração, em animais de laboratório, acarreta o aparecimento de necrose focal do coração (ASTORG & LEVILLAIN<sup>1</sup>; HUNG *et alii*<sup>7</sup>), fibrose (ATHIAS *et alii*<sup>2</sup>; RAY *et alii*<sup>12</sup>) e lipidose cardíaca (BHATIA *et alii*<sup>4</sup>; BHATIA *et alii*<sup>5</sup>).

Rações com diferentes teores de óleo de mostarda (0, 5, 10 e 15%), com alto teor de ácido erúico, foram administradas a ratos albinos durante períodos de tempo diversos (de 2 a 120 dias). Os grupos que receberam por 2 dias as rações com os níveis mais altos (10 e 15%) de óleo de mostarda apresentaram acentuado acúmulo de lipídios cardíacos (até 68%), principalmente triglicerídios. A análise dos lipídios cardíacos totais revelou um alto teor de ácido erúico (até 28%). Com o aumento do período de alimentação (até 120 dias) com óleo de mostarda, há uma diminuição progressiva dos altos índices que ocorrem precocemente (BHATIA *et alii*<sup>5</sup>; HUNG *et alii*<sup>7</sup>; KAKO & VASDEV<sup>8</sup>). Experimentos em frangos Leghorn apresentaram também resultados equivalentes (KRAMER & HULAN<sup>9</sup>).

O acúmulo dos triglicerídios cardíacos foi encontrado nos grupos de animais submetidos a rações contendo até 5% de ácido erúico. Isto não ocorre nos grupos alimentados com rações contendo 0,2% deste ácido (KRAMER & HULAN<sup>10</sup>).

Os resultados são semelhantes com a administração de óleo de mostarda ou de óleo de colza, desde que os teores de ácido erúico sejam equivalentes (BHATIA *et alii*<sup>5</sup>; HUNG *et alii*<sup>7</sup>; RAY *et alii*<sup>12</sup>).

A ingestão de rações contendo ácido erúico também causa diminuição da absorção intestinal de cálcio, decréscimo de cálcio nos ossos e alterações da relação cálcio/fósforo (NAVARRO *et alii*<sup>11</sup>).

Com a administração a ratos de rações contendo 20% de óleo de mostarda, por períodos variáveis (até 160 dias), houve aumento significativo dos triglicerídios mitocondriais, do éster de colesterol, da fosfatidilcolina e da esfingomielina. Simultaneamente ocorreu uma diminuição da fosfatidiletanolamina e da cardioliipina (SEN & SEN GUPTA<sup>16</sup>).

## MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizadas sementes de mostarda e mostardas preparadas, tendo sido analisadas as seguintes amostras:

— 15 amostras de óleo de semente de mostarda, extraídas no laboratório, de diversas procedências;

— 22 amostras de óleo extraído de mostardas preparadas, de origem nacional, adquiridas no comércio;

— 11 amostras de óleo extraído de mostardas preparadas, de procedência estrangeira (européia).

As amostras de semente de mostarda foram trituradas e as de mostarda preparadas foram homogeneizadas.

Os lipídios dessas amostras foram extraídos e quantificados de acordo com o método indicado nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz<sup>14</sup>.

Os lipídios assim extraídos foram submetidos a um processo de metilação, usando a técnica de transesterificação descrita por BADOLATO e ALMEIDA<sup>3</sup> que consiste em: colocar 25 mg de amostra em um frasco de transesterificação. Adicionar 15 ml de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 2% em metanol, 3 ml de hexano e algumas pérolas de vidro. Aquecer em refluxo por uma hora. Esfriar e adicionar cerca de 40 ml de solução saturada de NaCl; agitar por um minuto. Adicionar mais solução de NaCl até o solvente atingir a parte afunilada do frasco. Os ésteres metílicos formados se encontram dissolvidos no hexano.

A análise dos ésteres metílicos dos ácidos graxos foi efetuada em um cromatógrafo a gás, Varian, modelo 1400, com detector de ionização de chama acoplado a um integrador, Varian, modelo CDS 111.

Foi usada uma coluna de aço inox de 6 pés de comprimento e 1/8 de polegada de diâmetro interno, tendo como fase estacionária DEGS (succinato de dietileno glicol) a 20% em Chromosorb W/AW 80-100 "meshes", como suporte sólido.

### Condições de trabalho

Temperatura do injetor: 210°C

Temperatura do detector: 220°C

Temperatura da coluna: programada de 150 a 190°C, sendo  $\beta = 4^\circ\text{C}/\text{min}$ .

Gás de arraste: nitrogênio

Fluxo: 25 ml/min.

Sensibilidade: variável

Velocidade do papel: 0,2 cm/min.

Os principais ácidos graxos foram identificados por comparação com os tempos de retenção de padrões, e a porcentagem relativa foi determinada pelo processo de normalização interna.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tanto nas amostras de semente de mostarda como nas amostras de mostardas preparadas foram detectados os seguintes ácidos graxos: palmítico, palmitolêico, esteárico, olêico, linolêico, linolênico, gadolêico, behênico e erúico. Também foi detectado um pico não identificado que emerge logo após o ácido gadolêico (fig. 1 e 2).

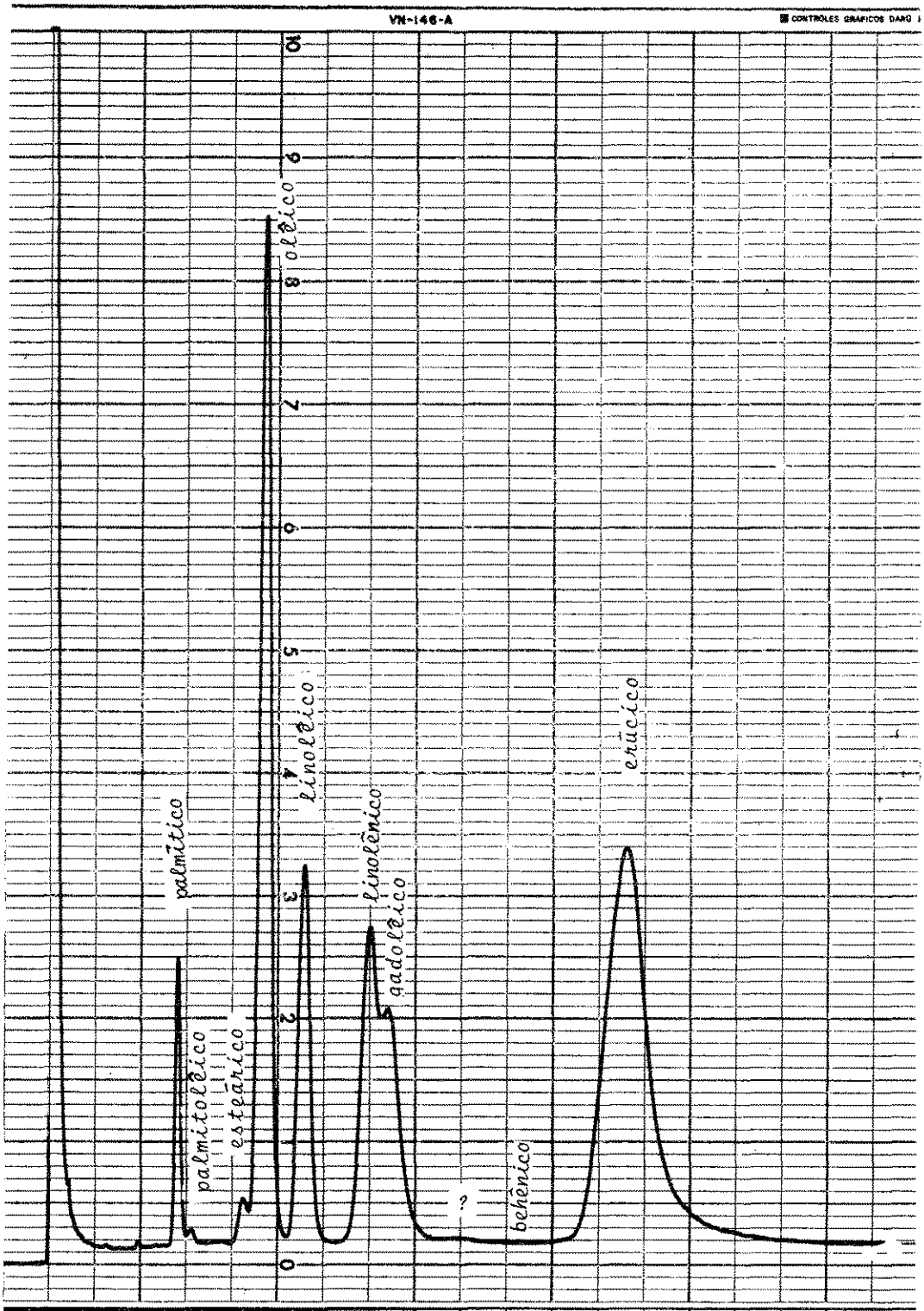


FIGURA 1 — Cromatograma de ácidos graxos de óleo de semente de mostarda extraído no laboratório.

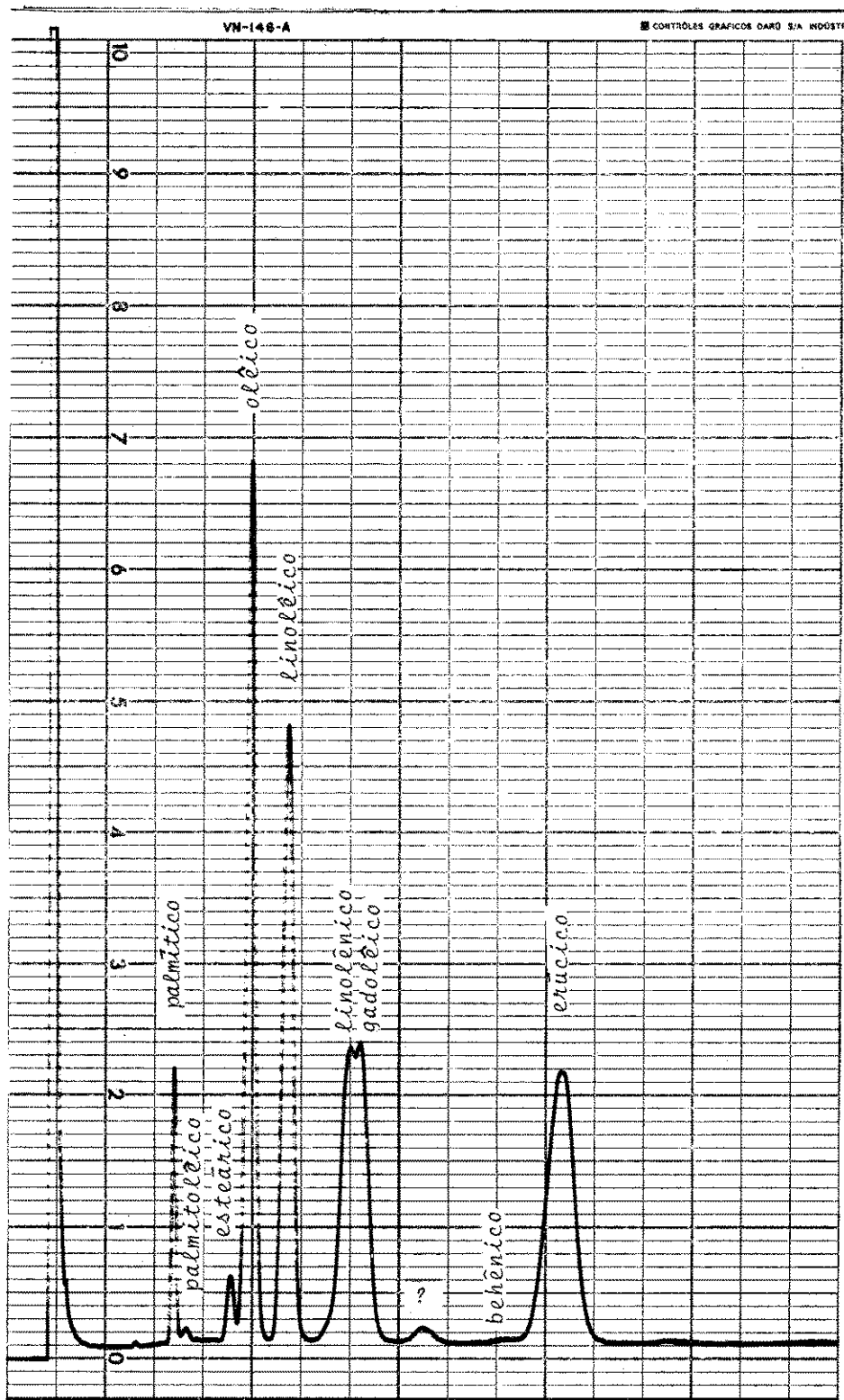


FIGURA 2 — Cromatograma de ácidos graxos de óleo de mostardas preparadas extraído no laboratório.

Os teores relativos dos ácidos graxos encontram-se reunidos nas tabelas 1, 2 e 3. Pelos dados obtidos verifica-se que o ácido erúico apresenta maior teor em relação ao total dos ácidos graxos, seguido do ácido oléico. Quanto aos ácidos linolênico e gadolêico eles foram computados conjuntamente devido à superposição parcial de seus picos; somente em algumas amostras houve separação, possibilitando o cálculo isolado.

Os teores de ácidos graxos de óleo de semente de mostarda (15 amostras) obtidos caem praticamente dentro dos intervalos estabelecidos provisoriamente pela Comissão do Codex Alimentarius sobre Óleos e Gorduras, da FAO/OMS, dados estes provenientes de aná-

lise de 4 amostras, publicados por SPENCER *et alii*<sup>17</sup>.

A presença do ácido mirístico em algumas amostras de mostardas preparadas é devida à adição de noz-moscada na formulação desses produtos. O óleo extraído de noz-moscada contém de 75 a 85% de ácido mirístico. As análises de óleo de noz-moscada, por nós efetuadas, demonstram ser o ácido mirístico o único ácido graxo, ausente no óleo de mostarda, detectável nas amostras de mostardas preparadas, não interferindo no seu perfil cromatográfico.

Os resultados da determinação dos lipídios estão reunidos na tabela 4.

TABELA 1

*Composição dos ácidos graxos das sementes de mostarda \**

Ácidos graxos	Valor %	
	mínimo	máximo
Palmitíco	3,0	4,4
Palmitolêico	tr**	0,8
Esteárico	0,9	2,1
Oléico	21,9	28,5
Linolêico	8,2	11,8
Linolênico/Gadolêico	19,3	30,0
Não identificado	tr	0,5
Behênico	tr	0,5
Erúico	34,7	44,1

\* N.º de amostras = 15

\*\* tr = traços

TABELA 2

*Composição dos ácidos graxos das mostardas preparadas nacionais \**

Ácidos graxos	Valor %	
	mínimo	máximo
Mirístico	tr**	3,5
Palmitíco	3,6	11,2
Palmitolêico	0,2	2,7
Esteárico	1,5	4,4
Oléico	15,7	33,9
Linolêico	7,6	21,8
Linolênico/gadolêico	14,4	25,9
Não identificado	tr	1,4
Behênico	tr	1,0
Erúico	15,6	38,0

\* N.º de amostras = 20

\*\* tr = traços

TABELA 3

*Composição dos ácidos graxos das mostardas preparadas estrangeiras\**

Ácidos graxos	Valor %	
	mínimo	máximo
Mirístico	tr**	0,1
Palmitico	3,6	5,9
Palmitoléico	0,1	1,0
Esteárico	1,2	2,8
Oléico	19,7	29,3
Linoléico	11,7	24,8
Linolênico/gadoléico	19,4	28,1
Não identificado	0,2	1,4
Behênico	tr	0,4
Erúico	18,7	31,7

\* N.º de amostras = 11

\*\* tr = traços

TABELA 4

*Teor de lípidios encontrado nas amostras analisadas*

Tipos de amostra	N.º de amostras	Valor %		
		mínimo	máximo	médio
Mostardas em grão	15	10,8	39,0	25,9
Mostardas preparadas nacionais	20	0,3	7,7	2,8
Mostardas preparadas estrangeiras (européias)	11	2,5	8,2	5,3

Considerando a porcentagem de lípidios encontrados, verificamos uma variação significativa comparando-se as mostardas preparadas nacionais com as européias. Pelos resultados incluídos na tabela 4, verificamos que as mostardas estrangeiras são fabricadas com maior quantidade de semente de mostarda que as nacionais.

#### CONCLUSÃO

A cromatografia em fase gasosa dos ácidos graxos presentes nas mostardas preparadas, através do perfil cromatográfico do óleo de semente de mostarda, permitiu não só a identificação do produto, como também detectar fraudes, seja pela substituição da semente de mostarda por outras especiarias como também

pela adição de outros óleos comestíveis. A cromatografia em fase gasosa é, ainda, um processo mais rápido e sensível do que a clássica pesquisa de isotiocianato de alila<sup>14</sup>.

A toxicidade do ácido erúico, presente no óleo de mostarda, tem sido objeto de pesquisa por diversos autores, como citado na revisão bibliográfica feita por GODED Y MUR<sup>6</sup> e nas demais referências constantes da introdução do trabalho. Entretanto, na bibliografia ao nosso alcance, não foram salientadas referências sobre os possíveis riscos provenientes da ingestão de mostardas preparadas.

Considerando que o consumo de mostarda é feito principalmente por crianças e adolescentes e que este consumo tende a aumentar devido a novos hábitos alimentares, o presente trabalho tem a preocupação de levantar o problema da ingestão em alta quantidade de

ácido erúcido através desse produto, e alertar para as possíveis conseqüências prejudiciais ao organismo.

Assim como foram desenvolvidas variedades de colza isentas ou com teor muito baixo de ácido erúcido, seria de interesse que os pesqui-

sadores se interessassem por resolução semelhante com relação às diferentes variedades de mostarda, considerando-se também que em alguns países, como Índia, Paquistão, Bangladesh, Polônia e outros, o óleo de mostarda é também utilizado como óleo comestível.

RIALA6/556

DURANTE, F.; BADOLATO, E.S.G. & ALMEIDA, M.E.W. — Determination of erucic acid in prepared mustards. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):33-40, 1983.

**ABSTRACT:** The presence of erucic acid in prepared mustards and in mustard seed oil was studied since this acid is toxic according to animal experimentation. Gas-liquid chromatography was employed to obtain a chromatographic profile of mustard seed oil and to detect frauds in prepared mustards. The following material was analysed: 15 samples of mustard seed oil extracted in the laboratory; 22 samples of Brazilian prepared mustard and 11 samples of European prepared mustard. The fatty acids identified and determined were: palmitic, palmitoleic, stearic, oleic, linoleic, linolenic, gadoleic, behenic and erucic acids. Erucic acid was the fatty acid found in higher amount (from 15.6 to 38.0%) related to the total fatty acids in mustard samples.

**DESCRIPTORS:** mustard seed oil, determination of erucic acid; mustard, prepared, determination of erucic acid; erucic acid, determination in mustard seed oil and prepared mustards; fatty acids, determination in mustard seed oil and prepared mustards; mustards, frauds.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASTORG, P.O. & LEVILLAIN, R. — Lésions du myocarde après ingestion d'acide docosénoïque chez le Rat: effets comparés des acides brassidique et érucique. *C. r. hebdomadaire des Séances Acad. Sci., Ser. D, Sci. nat.* 285:1123-6, 1977.
2. ATHIAS, P.; PINSON, A.; FRELIN, C.; PADIEU, P. & KLEPPING, J. — Comparative study on the effects of exogenous palmitate and erucate on intracellular electric properties of cultured beating heart cells. *J. mol. cell. Cardiol.*, 11:755-67, 1979.
3. BADOLATO E.S.G. & ALMEIDA, M.E.W. — Pesquisa por cromatografia em fase gasosa da adulteração de chocolates. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 37:47-56, 1977.
4. BHATIA, I.S.; SHARMA, A.K. & AHUJA, S.P. — Comparative in vitro metabolism of 1-<sup>14</sup>C-oleic acid & 1-<sup>14</sup>C-erucic acid in liver, heart & skeletal muscles of rats. *Indian J. exp. Biol.*, 16:897-902, 1978.
5. BHATIA, I.S.; SHARMA, A.K.; GUPTA, P.P. & AHUJA, S.P. — Effects of feeding mustard oil to rats on the in vivo lipid metabolism in heart and lungs. *Indian J. med. Res.*, 69:271-83, 1979.
6. GODED Y MUR, A. — Ácido erúcido — perfil bibliográfico esquemático. *Alimentaria*, 99:31-39, 41-58, 1979.
7. HUNG, S.; UMEMURA, T.; YAMASHIRO, S.; SLINGER, S.J. & HOLUB, B.J. — The effects of original and randomized rapeseed oils containing high or very low levels of erucic acid on cardiac lipids and myocardial lesions in rats. *Lipids*, 12:215-21, 1977.
8. KAKO, K.J. & VASDEV, S.C. — Effects of a high fat-high erucic acid diet on the lipid metabolism and contractility of the rat heart. *Biochem. Med.*, 22:76-87, 1979.
9. KRAMER, J.K.G. & HULAN, H.W. — Changes in cardiac lipids of chicks fed rapeseed oils with different levels of erucic acid. *Can. J. anim. Sci.*, 57:305-12, 1977.
10. KRAMER, J.K.G. & HULAN, H.W. — The effect of dietary erucic acid on cardiac triglycerides and free fatty acid levels in rats. *Lipids*, 13:438-45, 1978.
11. NAVARRO, M.P.; ANDUJAR, M.M.; BOCANEGRA, N. & CUESTA, C. — El aceite de colza en el metabolismo mineral de la rata. *Grasas Aceites*, 31:105-10, 1980.

12. RAY, S.; SEN GUPTA, K.P. & CHATTERJEE, G.C. — Effect of mustard oil, rapessed oil and groundnut oil feeding on development of myocardial lipidosis and fibrosis in rats. *Indian J. exp. Biol.*, 17:918-21, 1979.
13. ROSE, S.P.; BELL, J.M.; WILKIE, I.W. & SCHIEFER, H.B. — Influence of weed seed oil contamination on the nutritional quality of diets containing low erucic acid rapeseed (*Brassica napus*, Tower cultivar) oil when fed to rats. *J. Nutr.*, 111:355-64, 1981.
14. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. Vol. 1: *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 2.<sup>a</sup> ed. São Paulo, 1976.
15. SCHMIDT-HEBBEL, H. — *Las especias (condimentos vegetales): su importancia en química y tecnología de alimentos y en el arte culinario*. Santiago, Fundación Chile, 1980, p. 65.
16. SEN, A. & SEN GUPTA, K.P. — Effect of feeding mustard oil to rats on mitochondrial lipid profile of heart tissue. *Indian J. exp. Biol.*, 18:1012-15, 1980.
17. SPENCER, G.F.; HERB, S.F. & GORMISKY, P.J. — Fatty acid composition as a basis for identification of commercial fats and oils. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 53:94-6, 1976.

*Recebido para publicação em 8 de abril de 1983.*



ANÁLISE DE QUALIDADE E SUGESTÃO DE NORMA PARA  
ANÁLISE DE CHUPETAS, MORDEDORES E OUTROS  
ARTIGOS DE USO INFANTIL\*

Neusa Santesso GARRIDO \*\*  
Neus Pascuet PREGNOLATTO \*\*  
Lúcia Tieco Fukushima MURATA \*\*

RIALA6/557

GARRIDO, N.S.; PREGNOLATTO, N.P. & MURATA, L.T.F. — Análise de qualidade e sugestão de norma para análise de chupetas, mordedores e outros artigos de uso infantil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):41-46, 1983.

**RESUMO:** Foram analisados 138 artigos de uso infantil que normalmente são levados à boca compreendendo: chupetas, mordedores, mamadeiras e seus acessórios, com a finalidade de verificar se são próprios para os fins a que se destinam, do ponto de vista de sua segurança e quanto à migração de substâncias nocivas à saúde. Constatou-se que a grande maioria destes artigos é imprópria. Na ausência de uma norma na legislação brasileira para estes artigos, estabeleceu-se, neste trabalho, uma baseada na legislação para embalagens de alimentos, com algumas alterações. Enfatiza-se neste estudo a necessidade de uma normalização geral pelos órgãos competentes do Ministério da Saúde.

**DESCRIPTORIOS:** mamadeira (frasco de plástico), análise de qualidade; mamadeira (bico e acessórios), detecção de cádmio, chumbo; chupeta, análise de qualidade; chupeta, detecção de cádmio, chumbo; mordedor, análise de qualidade; mordedor, detecção de cádmio, chumbo.

## INTRODUÇÃO

A legislação brasileira, até novembro de 1981, não previa disposições que regulamentassem o uso de chupetas e mordedores, nem do ponto de vista analítico, nem quanto aos materiais usados em sua fabricação.

Depois de terem sido analisados alguns desses produtos e constatadas irregularidades higiênico-sanitárias em uma série de mordedores de determinada marca, foi publicada a Portaria n.º 117, regulamentando o uso destes artigos e outros similares<sup>3</sup>.

Nesta época, os autores já estavam fazendo um levantamento para verificar a qualidade destes artigos e desenvolvendo técnicas analíticas para uma possível normalização, tanto

do ponto de vista analítico como higiênico-sanitário.

A publicação da referida portaria não invalidou o estudo, pois não estabelece padrões de qualidade, não apresenta métodos de análise e não fornece listas de matérias-primas e aditivos para a fabricação destes artigos. Traz ainda no seu texto algumas incongruências como as contidas no oitavo item, que isenta os citados artigos de registro ou qualquer autorização prévia.

O Decreto-lei n.º 986, no item II do artigo 5.º, prevê a obrigatoriedade de registro para embalagens, equipamentos e utensílios elaborados e/ou revestidos internamente por substâncias resinosas e poliméricas, destinados a entrar em contato com alimentos, inclusive os de uso doméstico<sup>1, 2</sup>. É estranho que no caso

\* Realizado na Seção de Plásticos, Vernizes e outros Materiais de Embalagem do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

de artigos de uso infantil nada se exija, pois estes produtos podem apresentar um risco maior para as crianças, uma vez que permanecem em contato direto com a boca por um período prolongado.

Por outro lado, as mamadeiras e seus acessórios, tais como bicos, tampas e aros, que foram incluídos nesta portaria, já estavam perfeitamente enquadrados no Decreto-lei em questão, por se tratar de artigos e recipientes que entram em contato com alimentos.

Desta forma, estes artigos estão submetidos a duas legislações, sendo que numa delas estão obrigados a registro da Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos e, na outra, ficam sob a fiscalização da Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Medicamentos e correlatos, e não necessitam de registro.

A preocupação fundamental da Portaria n.º 117 é quanto à resistência mecânica e térmica dos artigos em questão, não especificando nenhuma lista de matérias-primas empregadas para seu fabrico, o que faz com que possam ser utilizados indiscriminadamente quaisquer materiais.

A maioria das chupetas, bicos de mamadeiras e mordedores é fabricada a partir da borracha natural (látex), que é a parte que entrará em contato direto com a boca das crianças.

Segundo SAX<sup>2</sup>, a borracha natural ou sintética é considerada fisiologicamente inerte, embora os aditivos nela contidos possam apresentar toxicidade.

Atualmente encontram-se à venda chupetas inteiriças, bicos de mamadeira e mordedores fabricados com compostos à base de cloreto de polivinila, contendo inúmeros aditivos, entre eles o ftalato de dioctila, que é um plastificante com toxicidade moderada<sup>3</sup>. Estes artigos, quando fabricados com borracha sintética ou látex, podem conter também uma extensa lista de aditivos, entre os quais os compostos de ditiocarbamatos e tiouramas, de alta toxicidade<sup>4</sup>.

Os acessórios para mamadeiras, chupetas e mordedores também entram, freqüentemente, em contato direto com a boca das crianças e são fabricados com polietileno, polipropileno, poliestireno e cloreto de polivinila. Das amostras analisadas, 98% possuíam corantes ou pigmentos em sua formulação. Os pigmentos à base de chumbo e cádmio, que conferem ao plástico uma coloração variando do amarelo ao vermelho, são muito usados por serem de

baixo custo e mais resistentes a altas temperaturas<sup>7</sup> porém, sua toxicidade é alta<sup>8</sup>.

O objetivo deste estudo é sugerir uma norma geral para análise dos artigos de uso infantil baseada na legislação de embalagens para alimentos<sup>4</sup>, pois estes produtos se enquadram melhor como correlatos de alimentos do que de medicamentos.

Paralelamente, foi feito um levantamento da qualidade dos referidos artigos encontrados à venda, tendo em vista a necessidade de normalização relativa ao controle na segurança, inocuidade, composição, e os aspectos sanitários, tanto de sua fabricação quanto de sua venda.

## MATERIAL E MÉTODO

De todas as amostras de artigos de uso infantil analisadas, foram consideradas apenas 138, por possuírem composição diferente, assim distribuídas:

frascos de mamadeira, 9  
bicos de mamadeira, 28  
mordedores, 20  
chupetas, 33  
acessórios para mamadeiras, mordedores e chupetas, 48

Como acessórios foram considerados os anéis, discos e copos protetores para mamadeiras, escudos, aros, batoques\* e protetores de bicos para chupetas, e cabos para mordedores. Foram considerados como chupetas os bicos e as chupetas inteiriças.

As amostras analisadas foram as colhidas ao acaso pelo Serviço de Fiscalização da Divisão do Exercício Profissional, São Paulo, que as remeteu ao Instituto Adolfo Lutz para análise fiscal, as enviadas para análises prévia e de orientação, e as adquiridas no comércio para complementação do estudo.

Basicamente, os testes efetuados sobre os referidos objetos foram os descritos na Resolução 45/77 da C.N.N.P.A. e consistem de provas de cessão com a finalidade de determinar a quantidade de substâncias passíveis de migrar do objeto para o alimento nele contido ou diretamente para a boca da criança<sup>4</sup>.

As provas de cessão para frascos, bicos e acessórios de mamadeira foram feitas utilizando-se água destilada como solvente simulante de água e chá, solução aquosa de ácido acético a 3% v/v como solvente simulante de sucos em geral e água destilada e n-heptano

\* Dispositivo que prende a argola da chupeta ao escudo.

como solventes simulantes do leite. Para chupetas, mordedores e seus acessórios, utilizou-se apenas água destilada como solvente simulante da saliva.

Como se trata de objetos destinados a uso na boca por crianças lactentes, a Portaria n.º 117 em seu artigo 2.º, recomenda que os mesmos sejam previamente colocados em água fervente<sup>3</sup>. Seguindo esta sugestão, os objetos ficaram em contato com água destilada a 100°C, durante 30 minutos, antes de serem submetidos às provas de cessão.

Os artigos que continham líquido em seu interior foram, ainda, submetidos ao teste de resistência a mordeduras e seu conteúdo foi submetido a exame microbiológico.

O teste de resistência a mordeduras consistiu em verificar após quanto tempo cobaias jovens perfuravam os objetos.

A análise microbiológica consistiu em retirar o líquido do mordedor em ambiente estéril e, mediante técnicas apropriadas<sup>6</sup>, proceder à pesquisa de bactérias do grupo coliforme, *Clostridium* sulfito redutor, fungos, *Bacillus* sp., *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriaceae* e *Streptococcus* sp.

Para os bicos de mamadeiras, de chupetas e mordedores, fabricados com borracha sintética ou látex, foi efetuada, ainda, a determinação da migração específica de ditiocarbamatos e tiouramas<sup>4</sup>, na solução proveniente da prova de cessão, visto que estes compostos podem fazer parte da formulação destes artigos.

Foram determinados, por espectrofotometria de absorção atômica, os metais chumbo e cádmio nos objetos que continham corantes ou pigmentos em sua composição.

Inicialmente foi feita a destruição da matéria orgânica por via seca, e o resíduo foi dissolvido, complexado com pirrolidinaditiocarbamato de amônio e extraído com metil-iso-butilcetona. As leituras foram feitas na fase orgânica, em condições estabelecidas para o equipamento usado.

O critério utilizado para a verificação da qualidade dos artigos de uso infantil adotado neste estudo consistiu em considerar de qualidade insatisfatória aqueles que apresentaram:

- resíduo total acima de 8 mg/dm<sup>2</sup>, após as provas de cessão;
- alteração na cor do solvente;
- alteração no odor do solvente (indicação de que houve migração de substâncias voláteis que provavelmente não constam do resíduo);
- alteração da amostra após as provas de cessão;
- migração específica de ditiocarbamatos e tiouramas no líquido de cessão acima de 0,2

mg/dm<sup>2</sup> em sulfeto de carbono, nos artigos em cuja preparação estes compostos tenham sido empregados;

— metais tóxicos acima de 1,0 ppm, nos objetos que contenham corantes ou pigmentos em sua formulação;

— baixa resistência a mordeduras (presença de rasgos ou furos em menos de doze horas de exposição) e contaminação microbiológica, nos mordedores que contenham líquido em seu interior.

## RESULTADOS

Os resultados obtidos nas provas de cessão figuram na tabela 1 e a determinação quantitativa de chumbo e cádmio na tabela 2.

Todos os mordedores do tipo gel, quando submetidos ao teste de resistência a mordeduras, foram perfurados; alguns deles possuíam líquido em seu interior contaminado por *Alcaligenes* sp, *S. epidermidis* e *Bacillus* sp., e 30% dos mesmos apresentou contagem de bactérias em placas acima de 300/ml.

## DISCUSSÃO

Nos testes efetuados, por problemas técnicos, não foram considerados os efeitos da mastigação e das enzimas da saliva, o que nos leva a crer que a migração real deva ser superior à encontrada.

A figura da página 45 mostra que a grande maioria dos artigos de uso infantil foi considerada inadequada, em função dos parâmetros fixados, com exceção dos frascos de mamadeiras, que passaram satisfatoriamente pelos testes pré-fixados. Acreditamos que este resultado possa ser explicado, uma vez que, no processo de fabricação de frascos de mamadeira são utilizados, como matérias-primas, polietileno, polipropileno e policarbonato, materiais estes que não necessitam de um grande número de adjuvantes de tecnologia e que, portanto, não apresentam migração apreciável frente aos solventes utilizados.

Os acessórios para mamadeiras, mordedores e chupetas, apesar de serem constituídos, em quase sua totalidade, de polietileno e polipropileno, possuíam em sua formulação corantes ou pigmentos contendo metais como chumbo e cádmio (tabela 2), o que explica a alta porcentagem de amostras consideradas insatisfatórias.

Na verdade, não vemos necessidade de se utilizarem corantes ou pigmentos na fabricação destes objetos, em função dos resultados encontrados, onde fica evidenciado que, além de desnecessários, tais aditivos constituem um risco à saúde.

TABELA 1

*Comportamento dos objetos de uso infantil frente aos testes efetuados*

Objetos de uso infantil	N.º de amostras analisadas	N.º de amostras consideradas insatisfatórias por apresentarem			N.º de amostras alteradas
		resíduo acima de 8 mg/dm <sup>2</sup>	alteração da cor do solvente	alteração no odor do solvente	
Bicos de chupetas	33	19	18	23	14
Mordedores	20	3	4	9	5
Frascos de mamadeira	9	z	z	z	z
Acessórios para chupetas, mamadeiras e mordedores	48	1	z	z	3
Bicos de mamadeira	28	20	13	13	15

TABELA 2

*Determinação de chumbo e cádmio em artigos de uso infantil coloridos*

Amostra n.º	Chumbo (ppm)	Cádmio (ppm)	Amostra n.º	Chumbo (ppm)	Cádmio (ppm)
1	0,62	0,14	21	1,39	12,30
2	0,83	8,90	22	0,23	0,39
3	0,47	0,27	23	0,63	3,13
4	200,46	0,07	24	0,66	2,21
5	2,07	130,68	25	490,87	8,84
6	32,28	1848,60	26	0,37	2,51
7	1,85	79,96	27	3,70	2,13
8	0,07	3,17	28	1,34	0,81
9	0,38	0,06	29	0,61	0,05
10	0,64	87,68	30	0,25	0,05
11	....	0,12	31	18,94	361,11
12	0,70	0,20	32	9,54	1325,00
13	0,08	0,19	33	0,11	9,92
14	1,57	8,90	34	0,32	0,22
15	0,75	0,03	35	1,27	0,13
16	0,30	1,82	36	0,73	0,08
17	0,42	0,86	37	0,16	0,03
18	0,57	1,60	38	0,28	0,14
19	0,04	0,41	39	0,44	1,27
20	1421,70	0,98	40	0,26	0,02

Os bicos de chupetas e mamadeiras, fabricados com látex ou borracha sintética apresentaram resultados semelhantes. A diferença na porcentagem de aprovação entre estes dois tipos de artigos prende-se ao fato de que os compostos de ditiocarbamatos e tiouramas, que são utilizados como agentes aceleradores da vulcanização<sup>7</sup>, possuem maior compatibilidade com solventes apolares. Devido a isto, sua migração nas provas de cessão para bicos de chupeta foi desprezível, o mesmo não ocorrendo quando se utilizou solvente simulante de gorduras nos bicos de mamadeiras. Neste

caso, seis amostras apresentaram migração destes compostos acima do limite tolerado pela Resolução 45/77 da C.N.N.P.A.<sup>4</sup>.

Os mordedores fabricados com borracha sintética ou látex apresentaram, na análise, resultados semelhantes aos dos bicos de chupetas e mamadeiras. Os mordedores inteiriços de cloreto de polivinila apresentaram qualidade satisfatória e os de tipo gel de cloreto de polivinila ou polietileno foram considerados insatisfatórios pelos testes específicos, efetuados, de resistência a mordeduras e pelo exame microbiológico do conteúdo.

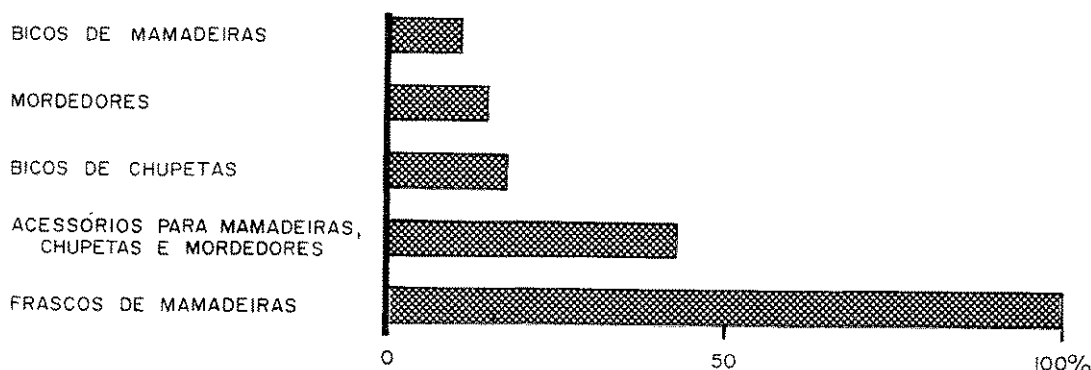


FIGURA — Porcentagem de amostras consideradas satisfatórias.

### CONCLUSÃO

A falta de um dispositivo legal que regule o uso de matérias-primas e que forneça normas de análise para artigos de uso infantil, aliada à flagrante deficiência de controle de qualidade nas indústrias que os fabricam, faz com que a grande maioria destes artigos postos à venda seja de qualidade duvidosa, quando não, péssima. Recomenda-se que, em função destes dados, passe a existir, pelos órgãos competentes, um maior interesse pelo problema.

Partindo-se do fato de que, dentre os artigos analisados existem alguns que foram considerados de qualidade satisfatória, conclui-se que as indústrias que fabricam estes artigos têm condições de entregar ao consumidor produtos com uma qualidade aceitável.

Finalmente sugerimos que as recomendações aqui propostas, ouvidos se possível outros pes-

quisadores, sejam adotadas pelo menos como tentativa de regulamentar a matéria.

Em vista dos resultados obtidos neste trabalho, da importância que os brinquedos têm na vida de uma criança e dos perigos que os mesmos podem representar, está sendo feito um levantamento sobre brinquedos infantis em função de sua segurança, principalmente a higiênico-sanitária.

### Agradecimentos

Agradecemos ao Dr. Waldomiro Pregnolato, por sugestões durante a execução do trabalho, às Dras. Alice Momoyo Ata Sakuma, Dilma Scala Gelli e Josefina Mendes, pela colaboração prestada, e às Srtas. Virgínia Mendes Engler, Mária Cecília Depieri Nunes e Celma Maria da Silva Quadros, pela colaboração técnica na execução das análises.

GARRIDO, N.S.; PREGNOLATTO, N.P. & MURATA, L.T.F. — Quality control of some articles for baby use: suggestion of a norm. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):41-46, 1983.

**ABSTRACT:** Determination of cadmium and lead and quality control tests were made in 138 samples of articles for baby use, including pacifiers, nursing bottles, and the like with the aim of verifying their quality. It was found that most tested articles were improper for the purposes to which they were destined. Due to lack of local regulations for this kind of article, it is suggested that a provisional standard or norm be issued on the basis of the current legislation for food packing materials. The need of their control by some qualified official agency is also emphasized.

**DESCRIPTORS:** nursing bottle (plastic container) quality control; nursing bottle (nipple and accessories), detection of cadmium and lead; nipple quality control; nipple, detection of cadmium and lead; pacifier, quality control; pacifier, detection of cadmium and lead.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Leis, decretos etc. — Decreto-lei n.º 986, de 21 de outubro de 1969. *Diário Oficial*, Brasília, 21 out. 1969. Seq. I, pt. I, p. 8935. Institui normas básicas sobre alimentos.
2. BRASIL. Leis, decretos etc. — Decreto-lei n.º 986, de 21 de outubro de 1969. *Diário Oficial*, Brasília, 11 nov. 1969. Seq. I, pt. I, p. 9738. Retificação.
3. BRASIL. Leis, decretos etc. — Portaria n.º 117, de 27 de novembro de 1981, da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. *Diário Oficial*, Brasília, 3 dez. 1981. Seção I, p. 22906. Regulamenta a produção, instruções de uso e vigilância sanitária de produtos e/ou bens destinados a uso externo, tais como chupetas...
4. BRASIL. Leis, decretos etc. — Resolução 45/77, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos do Ministério da Saúde. *Diário Oficial*, Brasília, 1 fev. 1978. Seção I, pt. I, p. 1781-95. Aprova as listas de polímeros, resinas e respectivos aditivos e regulamenta o seu emprego na elaboração ou revestimento de embalagens...
5. GOSSELIN, R.E.; HODGE, H.C.; SMITH, R.P. & GLEASON, M.N. — *Clinical toxicology of commercial products: acute poisoning*. 4th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1976. Section II, p. 197, 201.
6. LUCAS, J.P. — Microbiological methods for cosmetics. In: ESTADOS UNIDOS. Food and Drug Administration, Bureau of Foods Division of Microbiology — *Bacteriological Analytical Manual*. 5th ed. Washington, FDA, 1978. Cap. 23, p. 1.
7. MILES, D.C. & BRISTON, J.H. — Tecnologia dos polímeros. Trad. Caetano Belliboni. São Paulo, EDUSP/Polígono, 1975. p. 365.
8. SAX, N.I. — *Handbook of dangerous materials*. New York, Reinhold, 1951. p. 70, 217, 220.

Recebido para publicação em 8 de abril de 1983.

## HEMOPARASITAS DE QUIRÓPTEROS E MARSUPIAIS CAPTURADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL\*

Domingas M. A. G. Vieira TORRES \*\*  
Rosa Maria D. Souza DIAS \*\*  
Pedro Paulo CHIEFFI \*\*  
José Eduardo TOLEZANO \*\*  
Adélia H. NAGAMORI\*\*

RIAL6/558

TORRES, D.M.A.G.V.; DIAS, R.M.D.S.; CHIEFFI, P.P.; TOLEZANO, J.E. & NAGAMORI, A.H. — Hemoparasitas de quirópteros e marsupiais capturados no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43:47-53, 1983.

RESUMO: Estudaram-se os hemoparasitas de 399 quirópteros e 73 marsupiais capturados em áreas florestais do Estado de São Paulo, localizadas nos municípios de Itapetininga, Salesópolis, Iguape, Itanhaém, Santos e São Paulo. De cada animal retirou-se amostra de sangue, procedendo-se à preparação de esfregaços corados pela técnica de Giemsa. Foi revelada a presença de hemoparasitas em 73 (18,3%) quirópteros e 10 marsupiais (14,3%). Entre os quirópteros encontraram-se os seguintes hemoparasitas, com a respectiva frequência: *Litomosoides* sp. (13,5%), *Hepatozoon* sp. (1,8%), *Grahamella* sp. (1,5%) e *Trypanosoma* sp. (1,5%). No caso dos marsupiais, encontraram-se apenas duas espécies de hemoparasitas: *Hepatozoon* sp. (9,6%) e *Grahamella* sp. (4,1%). Os tripanosomídeos presentes nos quirópteros examinados puderam ser classificados no subgênero *Schizotrypanum*, em três ocasiões, e no subgênero *Megatrypanum*, em outras três.

DESCRITORES: quirópteros (morcegos), hemoparasitismo; marsupiais, hemoparasitismo; animais silvestres, São Paulo, SP, Brasil; parasitas, hemoparasitas em animais silvestres, Estado de São Paulo, Brasil.

### INTRODUÇÃO

As pesquisas realizadas com animais silvestres capturados em seus ecótopos naturais, com o intuito de estabelecer sua importância como reservatórios de agentes que eventualmente atinjam a população humana, sempre foram consideradas com destaque em estudos epidemiológicos. Todavia, dadas as dificuldades de captura de animais silvestres em quantidade significativa, além dos problemas relativos à classificação sistemática e manipulação desses animais, estudos sobre sua fauna parasitária, quando capturados em seu ambiente natural, são pouco frequentes.

A literatura registra o encontro de diversas espécies de hemoparasitas albergados por qui-

rópteros e marsupiais: tripanosomídeos<sup>1, 2, 4, 5, 6, 8, 14, 17, 18, 21, 22</sup>, hemosporídeos<sup>2, 7, 9, 12, 19, 20</sup>, *Grahamella* sp.<sup>3, 14</sup> e microfilárias<sup>2, 10</sup>.

No presente trabalho procura-se determinar a presença e frequência de hemoparasitas em quirópteros e marsupiais capturados em áreas florestais do Estado de São Paulo.

### MATERIAL E MÉTODOS

De um total de 399 quirópteros e 73 marsupiais capturados em áreas florestais do Estado de São Paulo, localizadas nos municípios de Itapetininga, Salesópolis, Iguape, Itanhaém, Santos e São Paulo, retiraram-se amostras de sangue, procedendo-se à preparação de esfrega-

\* Realizado no Serviço de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

gaços corados através da técnica de Giemsa. As preparações foram examinadas ao microscópio óptico, com aumentos de 100 e 1000 vezes.

O exame das características anatômicas dos animais capturados permitiu classificá-los nos gêneros e espécies relacionados nas tabelas 1 e 3. No caso dos quirópteros, em 126 exemplares não se conseguiu classificação do ponto de vista sistemático; entre os marsupiais, tal situação verificou-se apenas em duas ocasiões.

### RESULTADOS

O exame dos esfregaços revelou a presença de hemoparasitas em 73 (18,3%) quirópteros

e 10 (14,3%) marsupiais. Entre os marsupiais, em nenhum caso se observou mais do que uma espécie de parasita no mesmo hospedeiro. Já entre os quirópteros, em quatro ocasiões ocorreu infecção mista, com presença de duas espécies de parasitas associadas.

As tabelas 1 e 2 mostram a distribuição dos 399 quirópteros examinados em função da classificação sistemática, frequência de hemoparasitas e local de captura.

No caso dos 73 marsupiais examinados, a gama de hemoparasitas foi menor, como mostram as tabelas 3 e 4, onde se relacionam a classificação sistemática, a frequência de parasitismo e o local de captura dos animais.

TABELA 1

Frequência de hemoparasitas em 399 quirópteros capturados em áreas florestais do Estado de São Paulo

Quirópteros capturados		Hemoparasitas				
Classificação	N.º	Litomoides n.º	Hepatozoon (*) n.º	Grahamella n.º	Trypanosoma	
					Megatrypanum n.º	Schizotrypanum n.º
<i>Sturnira lilium</i>	79	18	5	—	—	—
<i>Sturnira</i> sp.	14	4	—	—	—	1
<i>Artibeus lituratus</i>	17	2	—	—	—	—
<i>Artibeus jamaicensis</i>	9	1	—	—	—	—
<i>Artibeus</i> sp.	41	4	—	1	—	—
<i>Carollia perspicillata</i>	32	2	—	1	—	—
<i>Carollia</i> sp.	24	5	—	2	—	1
<i>Anoura</i> sp.	17	1	—	1	—	—
<i>Pygoderma bilabiatum</i>	7	1	—	—	—	—
<i>Desmodus rotundus</i>	9	—	1	—	2	—
<i>Lasiurus borealis</i>	1	—	—	—	—	—
<i>Lasiurus</i> sp.	5	—	—	—	—	—
<i>Vampirops</i> sp.	3	—	—	—	—	—
<i>Myotis chiloensis</i>	9	—	—	—	—	—
<i>Myotis</i> sp.	2	—	—	—	—	—
<i>Phyllostomus hastatus</i>	1	—	—	—	—	—
<i>Noctilio leporinus</i>	9	—	—	—	—	—
Sem classificação	126	16	1	1	1	1
<b>Total</b>	<b>399</b>	<b>54</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>3</b>	<b>3</b>

(\*) Hemoparasitas com morfologia semelhante à do gênero *Hepatozoon*, parasitando leucócitos.

(—) Não encontrado.



TABELA 2

Frequência de hemoparasitas em 399 quirópteros capturados em áreas florestais do Estado de São Paulo, conforme município de captura

Quirópteros capturados		Hemoparasitas									
Municípios	N.º	<i>Litomosoides</i>		<i>Hepatozoon</i>		<i>Grahamella</i>		<i>Trypanosoma</i>			
		n.º	%	n.º	%	n.º	%	<i>Megatrypanum</i>		<i>Schizotrypanum</i>	
								n.º	%	n.º	%
Itapetininga	89	33	37,0	—	—	1	1,1	—	—	—	—
Salesópolis	80	4	5,0	6	7,5	3	3,7	2	2,4	2	2,4
Peruíbe	43	5	11,6	—	—	—	—	—	—	1	2,3
Santos	171	21	12,3	—	—	2	1,2	1	0,6	—	—
Iguape	8	2	25,0	—	—	—	—	—	—	—	—
Itanhaém	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(—) Não encontrado.

TABELA 3

Freqüência de hemoparasitas em 73 marsupiais capturados em áreas florestais do Estado de São Paulo

Marsupiais capturados		Hemoparasitas	
Classificação	N.º	<i>Hepatozoon</i> N.º	<i>Grahamella</i> N.º
<i>Didelphis azarae</i>	2	—	—
<i>D. marsupialis</i>	53	6	2
<i>Metachirus nudicaudatus</i>	2	1	—
<i>Phylander opossum</i>	10	—	1
<i>Phylander</i> sp.	2	—	—
<i>Marmosa</i> sp.	1	—	—
<i>Monodelphis americanus</i>	1	—	—
Sem classificação	2	—	—
Total	73	7	3

TABELA 4

Freqüência de hemoparasitas em 73 marsupiais capturados em áreas florestais do Estado de São Paulo, conforme município de captura

Marsupiais capturados		Hemoparasitas			
Município	N.º	<i>Hepatozoon</i>		<i>Grahamella</i>	
		N.º	%	N.º	%
Salesópolis	30	2	6,6	1	3,3
Santos	21	5	23,8	—	—
Itapetininga	16	—	—	2	12,5
Outros	6	—	—	—	—

#### DISCUSSÃO

O estudo de hemoparasitas de quirópteros e marsupiais assume importância por suscitar questões de interesse especialmente em Parasitologia Geral. Todavia, como os tripanosomídeos podem afetar a população humana, o presente levantamento apresenta, também, interesse na área de Parasitologia Médica. Existem, ainda, referências na literatura de alguns casos de acometimento humano por hemogregarínídeos<sup>16</sup>, cuja importância e papel epidemiológico necessitam ser estabelecidos por estudos mais aprofundados.

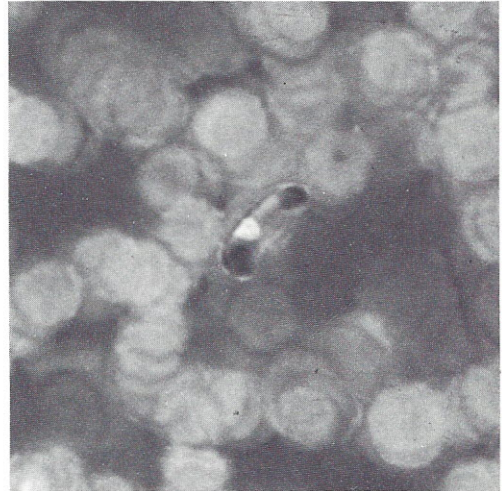
Entre os quirópteros, o hemoparasita mais freqüente foi *Litomosoides* sp. (fig. 1), filarídeo encontrado em 13,5% dos morcegos examinados. Deve-se destacar, entretanto, o encontro de tripanosomas em seis morcegos,

três com morfologia semelhante à do subgênero *Schizotrypanum* e outros três com aspecto de *Megatrypanum*. Além desses hemoparasitas, encontraram-se gametócitos semelhantes aos de *Hepatozoon* sp. (fig. 2) e *Grahamella* sp. em, respectivamente, 1,8% e 1,5% dos quirópteros estudados.

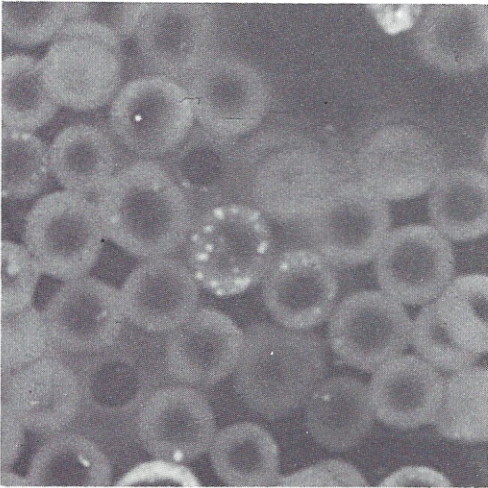
O parasitismo por *Litomosoides* em morcegos originários do continente americano não é evento raro. ESSLINGER<sup>10</sup>, ao revisar diversas publicações em 1973, assinala a presença de oito espécies do gênero *Litomosoides* parasitando diversas espécies de quirópteros na América Latina. No presente trabalho não se realizou a identificação das espécies de *Litomosoides*, em razão de se ter examinado apenas o sangue periférico dos quirópteros, onde estão presentes somente as microfilárias e não os vermes adultos.



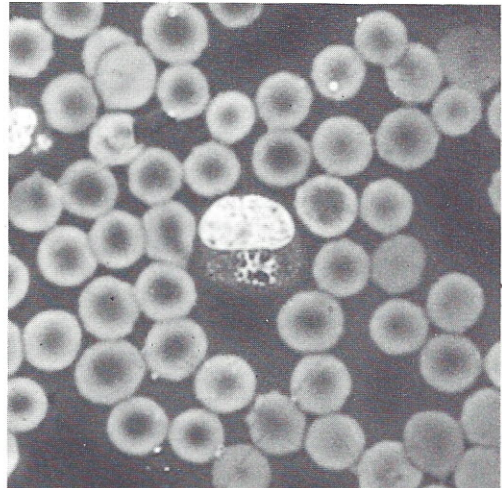
1



2



3



4

FIGURA 1 — Microfilaria de *Litomosoides* sp., no sangue periférico de *Sturnira lilium*.

FIGURA 2 — Gametócito de hematozoário no sangue periférico de *Sturnira lilium*, com morfologia semelhante a *Hepatozoon* sp.

FIGURA 3 — *Grahamella* sp. parasitando hemácia de *Carollia perspicillata*.

FIGURA 4 — Gametócito de *Hepatozoon* sp. em leucócito de *Didelphis marsupialis*.

A ocorrência de tripanosomídeos em morcegos também é relativamente freqüente<sup>15</sup>, conhecendo-se, em todo o mundo, cerca de 70 espécies de quirópteros que albergam tripanosomas do subgênero *Schizotrypanum*, cuja espécie-tipo é o *Trypanosoma cruzi*. De acordo com MARINKELLE<sup>17</sup>, no subgênero *Schizotrypanum*, que interessa mais de perto ao homem, há diversas espécies (*Trypanosoma* (S.) *vespertilionis*, *T.* (S.) *pipistrelli*, *T.* (S.) *phyllostomae*, *T.* (S.) *pteropi*, *T.* (S.) *hipposideri* e *T.* (S.) *cruzi*), sendo difícil a diferenciação morfológica com o *T. cruzi*. Três destas espécies, além do *T. cruzi*, já foram assinaladas na América: *T. vespertilionis*, *T. pipistrelli* e *T. phyllostomae*, porém apenas as duas primeiras foram encontradas no Brasil, até o momento. No trabalho que é objeto desta comunicação encontraram-se três morcegos albergando tripanosomas semelhantes a *Schizotrypanum* e três com formas iguais a *Megatrypanum*. A impossibilidade de submeter o material a outros exames (cultura, inoculação e xenodiagnóstico) impediu a identificação específica dos *Schizotrypanum*.

Encontraram-se, em sete dos quirópteros examinados (cinco *Sturnira lilium*, um *Desmodus rotundus* e um morcego não classificado do ponto de vista sistemático), gametócitos de hemocitozoários, parasitando leucócitos ou mesmo livres no sangue periférico, cuja morfologia é muito semelhante à do gênero *Hepatozoon*, embora não tenhamos achado referências à presença de espécies desse gênero em quirópteros. Todavia, além do aspecto morfológico, também o tipo de células parasitadas aproximam os espécimes por nós encontrados do gênero *Hepatozoon*, uma vez que os demais hemocitozoários deste grupo, descritos em morcegos e pertencentes aos gêneros *Polychromophilus*, *Nycteria* e *Hepatozystis*, são parasitas de hemácias<sup>12, 13</sup>.

*Grahamella* (fig. 3), considerada atualmente como bactéria da família *Bartonellaceae*<sup>23</sup>, já foi assinalada em numerosas espécies de mamíferos, entre as quais morcegos<sup>14</sup> e marsupiais<sup>3</sup>. No presente trabalho identificou-se

este microrganismo em 1,5% dos quirópteros e 4,1% dos marsupiais examinados.

Entre os 73 marsupiais estudados diagnosticaram-se apenas duas espécies de hemoparasitas: *Hepatozoon* sp. (fig. 4) e *Grahamella* sp.

Existem apenas algumas referências a parasitismo de marsupiais por hemogregarinídeos, em nosso meio. DUTRA & ARANTES<sup>9</sup>, em 1916, descreveram a *Haemogregarina didelphides* no sangue de *Didelphys marsupialis aurita* capturado próximo à cidade do Rio de Janeiro; REGENDANZ & KIKUTH<sup>10</sup>, mais de dez anos depois, reencontraram este parasita em gambá capturado em Petrópolis, no Estado do Rio de Janeiro, e descreveram também outra espécie, que denominaram *Haemogregarina metachiri*, pois parasitava *Metachirus quica* (*M. nudicaudatus*)<sup>20</sup>. Em 1961, DEANE & DEANE<sup>7</sup> descrevem o achado de um hemocitozoário em hemácias de gambás capturados no Estado do Pará, que consideram como piroplasma, em virtude de suas características morfológicas.

Empregando nomenclatura defendida por MANWELL<sup>16</sup>, adotamos o nome *Hepatozoon*, em lugar de *Haemogregarina* para o gênero de hemogregarinídeo encontrado, em nossa pesquisa, em *Didelphys marsupialis* e também em *Metachirus nudicaudatus*, visto que pela semelhança morfológica acreditamos tratar-se, em ambos os casos, da mesma espécie de protozoário.

Finalizando, é preciso ressaltar que a ausência de tripanosomídeos nos 73 exemplares de marsupiais examinados é possivelmente consequência de limitações inerentes à coleta e manuseio da amostra trabalhada, uma vez que é relativamente freqüente o encontro destes flagelados nestes animais<sup>4, 5, 6, 8, 18</sup>. Corroborando esta hipótese, temos o fato de que em trabalho que ainda está em andamento e no qual marsupiais têm sido capturados, transportados e mantidos vivos em laboratório e submetidos, entre outros exames, a hemocultura e xenodiagnóstico, é apreciável a quantidade encontrada de tripanosomídeos.

RIALAG/558

TORRES, D.M.A.G.V.; DIAS, R.M.D.S.; CHIEFFI, P.P.; TOLEZANO, J.E. & NAGAMORI, A.H. — Blood parasites in Chiroptera and Marsupialia trapped in São Paulo State, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43:45-53, 1983.

ABSTRACT: The blood parasites of 399 Chiroptera and 73 Marsupialia trapped in six forestal areas of São Paulo state, Brazil were studied. From each animal, blood films were prepared using Giemsa staining technique. The frequency of blood parasites was 18.3% among Chiroptera and 14.3% among Marsupialia. *Litosomoides* sp. (13.5%), *Hepatozoon* sp. (1.8%), *Grahamella* sp. (1.5%), *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) (0.8%), and *Trypanosoma* (*Megatrypanum*) (0.8%) were found in Chiroptera blood. Only *Hepatozoon* sp. (9.6%) and *Grahamella* sp. (4.1%) were identified in Marsupialia blood.

DESCRIPTORS: chiroptera, blood parasites; marsupialia, blood parasites; wild animals, S. Paulo State, Brazil; parasites, hemoparasites in wild animals, S. Paulo State, Brazil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABRANCHES, P. & BACELAR, F. — Tripanossoma do subgênero *Schizotrypanum* em morcegos portugueses. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 22:1-6, 1980.
2. ANCIAUX DE FAVEAUX, M. — Les parasites des chiroptères. Role épidémiologique chez les animaux et l'homme au Katanga. *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 40:21-38, 1965.
3. ARAUJO FILHO, N.A.; MARZOCHI, M.C.A.; SOUZA, W.J.S.; COUTINHO, S.G. & AMENDOEIRA, M.R. — *Grahamella*, Brumpt, 1911, em marsupiais e roedores da Ilha Grande (Rio de Janeiro). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 5.º, Rio de Janeiro, 1980. p. 24. [Resumos]
4. BARRETTO, M.P. & RIBEIRO, R.D. — Reservatórios silvestres de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*, Chagas, 1909. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39:25-36, 1979.
5. DEANE, L.M. — Encontro de tripanossoma do tipo *rangeli* em gambás da espécie *Didelphis marsupialis marsupialis* no Estado do Pará. *Rev. bras. Malariol. Doenças trop.*, 10:451-8, 1958.
6. DEANE, L.M. — Tripanosomídeos da região Amazônica. 1. Alguns flagelados encontrados no sangue de mamíferos silvestres do Estado do Pará. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 3:15-28, 1961.
7. DEANE, L.M. & DEANE, M.P. — Sobre dois hemocitozoários encontrados em mamíferos silvestres da região amazônica. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 3:107-10, 1961.
8. DEANE, L.L. & JANSEN, G. — Encontro de *Schizotrypanum cruzi* (Chagas, 1909) em marsupiais da espécie *Marmosa cinerea* Desmarest. *Brasil méd.*, 53:265-6, 1939.
9. D'UTRA E SILVA, O. & ARANTES, J. B. — Sobre uma hemogregarina do gambá: *Haemogregarina didelphydes* n. sp. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 8:61-3, 1916.
10. ESSLINGER, J.H. — The genus *Litomosoides* Chandler, 1931 (Filaroidea: Onchocercidae) in Colombian bats and rats. *J. Parasit.*, 59:225-46, 1973.
11. FALLIS, A.M. & DESSER, S.S. — On species of *Leucocytozoon*, *Haemoproteus*, and *Hepatocytis*. In: KREIER, J.P., ed. — *Parasitic protozoa*. New York, Academic Press, 1977. v. 3, p. 239-66.
12. GARNHAM, P.C.C.; LAINSON, R. & SHAW, J.J. — A contribution to the study of the haematozoon parasites of bats. A new mammalian haemoproteid, *Polychromophilus deanei* n. sp. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 69:119-28, 1971.
13. GARNHAM, P.C.C. — *Malaria parasites and other haemosporidia*. Oxford, Blackwell, 1966. p. 823-897.
14. GOEDBLOED, E.; CREMERS-HOYER, L. & PERIÉ, N.M. — Blood parasites of bats in the Netherlands. *Ann. trop. Med. Parasitol.*, 58:257-60, 1964.
15. HOARE, C.A. — *The trypanosomes of mammals*. A zoological monograph. Oxford, Blackwell, 1972. 749 p.
16. MANWELL, R.D. — Gregarines and haemogregarines. In: KREIER, J.P., ed. — *Parasitic protozoa*. New York, Academic Press, 1977. v. 3, p. 1-32.
17. MARINKELLE, C.J. — Biology of trypanosomes of bats. In: LUMSDEN, W.H.R. & EVANS, D.A., ed. — *Biology of the Kinetoplastida*. London, Acad. Press, 1976. v.1, p. 175-216.
18. MELLO, D.A. — *Trypanosoma (Megatrypanum) samueli* n. sp. a trypanosomatidae isolated from *Monodelphis domestica* (Wagner, 1842) (Marsupialia). *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 52:391-5, 1977.
19. REGENDANZ, P. & KIKUTH, W. — Sur les hémogregarines du "gamba" (*Haemogregarina didelphydis*, de la "quica" (*Haemogregarina metachiri* n. sp.) et sur l'*Haemogregarina ratti*. *C.R. Séanc. Soc. Biol.*, 98:1565-7, 1928.
20. REGENDANZ, R. & KIKUTH, W. — Sur un parasite du sang des "quica" (*Metachirus quica*), *Nuttalia brasiliensis* n. sp. et influence de la rate sur les infections latentes du sang. *C.R. Séanc. Soc. Biol.*, 98:1567-9, 1928.
21. RÊGO, S.F.M.; MAGALHÃES, A.E.A. & SIQUEIRA, A.F. — Um novo tripanossoma do gambá. *Trypanosoma freitasi* n. sp. *Rev. bras. Malariol. Doenças trop.*, 9:277-84, 1957.
22. RODRIGUES, V.L.C.C.; ROCHA E SILVA, E.O.; CAMARGO, J.C. & FERRAZ FILHO, A.N. — Nova espécie de *Trypanosoma (Megatrypanum)* encontrada parasitando *Marmosa cinerea* (Marsupialia: Didelphidae), no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. bras. Biol.*, 42:741-4, 1982.
23. WEIMAN, D. & KREIER, J.P. — Bartonella and Grahamella. In: KREIER, J.P. ed. — *Parasitic protozoa*. New York, Academic Press, 1977. v. 4, p. 198-234.

Recebido para publicação em 20 de abril de 1983.



## INFECÇÕES POR ENTEROVÍRUS EM RECÉM-NASCIDOS EM AMBIENTE HOSPITALAR\*

Eliseu Alves WALDMAN \*\*  
Rudolf Uri HUTZLER \*\*\*  
José Paulo Gonzaga de LACERDA \*\*\*\*

RIALAG/559

WALDMAN, E.A.; HUTZLER, R.U. & LACERDA, J.P.G. — Infecções por enterovírus em recém-nascidos em ambiente hospitalar. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):55-68, 1983.

**RESUMO:** Foi pesquisada infecção intestinal causada por enterovírus em 97 recém-nascidos internados em enfermaria de Hospital Geral Universitário, São Paulo, Brasil. Essas crianças foram acompanhadas por meio de coleta semanal de amostras de fezes, obtidas por meio de "swab" retal, desde a internação até a alta hospitalar ou óbito. A mediana dos períodos de internação foi 24 dias. O grupo estudado pertencia a segmento da população de baixo nível sócio-econômico. Dos 97 recém-nascidos acompanhados, 47 (48,5%) apresentaram-se infectados por enterovírus em algum momento da internação. O poliovírus 1 foi o mais freqüentemente isolado, 79,6% dos vírus identificados. Em dois casos, o primeiro isolamento do agente ocorreu nos três primeiros dias de vida. Dos que eliminavam enterovírus pelas fezes, 65,9% e 25,5% o fizeram por períodos não inferiores a, respectivamente, duas e três semanas. São discutidos os possíveis fatores determinantes dessa infecção tão precoce, assim como as prováveis formas pelas quais esses vírus foram introduzidos no ambiente hospitalar.

**DESCRITORES:** infecção por enterovírus, ocorrência em recém-nascidos; infecção cruzada, ocorrência em recém-nascidos; recém-nascidos, infecção cruzada, ocorrência; recém-nascidos, infecção por enterovírus, ocorrência.

### INTRODUÇÃO

A infecção neonatal por enterovírus é provavelmente comum, porém, raramente seguida de doença em virtude da presença de anticorpos maternos<sup>1, 2, 6, 14, 30, 36, 37</sup>. Nos casos em que a enfermidade se manifesta, pode apresentar desde formas oligossintomáticas até quadros graves, muitas vezes fatais<sup>1, 2, 6, 7</sup>.

A partir da década de cinquenta, a literatura médica passa a registrar relatos de infecções, em recém-nascidos, causadas por enterovírus<sup>2, 11, 14, 15, 17, 24, 25, 36, 37, 41, 44</sup>. Cumpre salientar que a maioria dessas publicações refe-

rem-se a epidemias causadas por esses vírus em grupos de crianças internadas em berçários de hospitais localizados em países desenvolvidos, onde, provavelmente, os enterovírus apresentam menor circulação no ambiente em virtude das adequadas condições habitacionais e de saneamento básico e do elevado padrão de vida dessas populações. Por sua vez, a quase totalidade desses trabalhos diz respeito a países em período posterior ao controle de poliomielite pela imunização<sup>1, 2, 7, 9, 11, 14, 17, 24, 25, 30, 31, 36, 37</sup>.

Vários autores, entre eles LAPINLEIMU & KASKI<sup>25</sup>, LAPINLEIMU & HAKULI-

\* Realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, São Paulo, SP, e no Serviço de Virologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP. (Resumo da parte experimental de tese do autor<sup>42</sup>).

\*\* Da Faculdade de Saúde Pública da USP, São Paulo, SP, e do Instituto Adolfo Lutz.

\*\*\* Da Faculdade de Medicina da USP.

\*\*\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

NEM<sup>24</sup> e SWEDER et alii<sup>41</sup>, têm revelado a coincidência de epidemias causadas por enterovírus entre recém-nascidos internados em berçários de hospitais, com a circulação, na mesma região, desses agentes microbianos. Este fato constitui argumento para se inferir que, de certa forma, o comportamento desses vírus, em ambiente hospitalar, esteja imbricado com sua maneira de apresentação na comunidade.

Em nosso meio, até data recente, existiam somente estudos esparsos relativos a esse assunto<sup>5, 10, 23</sup>, a despeito das condições que propiciam a circulação desses vírus em ambiente hospitalar serem semelhantes àquelas que permitem a ocorrência de infecções cruzadas causadas por bactérias<sup>9, 24, 34, 41</sup>, problema que tem constituído tema de importantes pesquisas desenvolvidas por autores nacionais<sup>19, 34</sup>.

Em face das considerações apresentadas e também do fato de vivermos numa região cuja estrutura epidemiológica favorece a ampla disseminação dos enterovírus<sup>4, 5, 8, 39</sup>, estabelecemos como objetivo do presente trabalho o estudo da frequência de infecção enterovírica em recém-nascidos hospitalizados, buscando avaliar a importância dessas crianças como fontes de infecção desses agentes e discutir as possíveis formas de transmissão ocorridas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Estudou-se, durante o período de setembro de 1974 a outubro de 1975, a frequência de infecção intestinal por enterovírus nas crianças admitidas por qualquer enfermidade, em unidade de internação de recém-nascidos da Clínica Pediátrica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo ("berçário do H.C."), cuja capacidade na época era de 20 leitos.

Como amostra escolheram-se, por sorteio, as crianças internadas, durante o período estabelecido, nos 10 leitos ímpares da citada enfermaria. Esse critério caracteriza nossa amostra como equiprobabilística de conglomerado.

Para maior segurança na análise da frequência de infecção enterovírica nas crianças estudadas, subdividimos os recém-nascidos incluídos na presente pesquisa em três grupos, com base em possíveis diferenças no risco de infecção no período anterior à internação:

— Grupo A: constituído por crianças nascidas de parto domiciliar que, posteriormente, por alguma enfermidade, foram internadas no "berçário do H.C.";

— Grupo B: constituído por crianças nascidas de parto hospitalar que, por necessidade de cuidados especializados, foram transferidas para o "berçário do H.C.", sem que tivessem tido contato com o ambiente familiar;

— Grupo C: constituído por crianças nascidas de parto hospitalar que, após receberem alta e permanecerem certo tempo no ambiente

familiar, apresentaram alguma enfermidade que as levaram à internação do "berçário do H.C.".

Todas as informações referentes às crianças estudadas, exceto os resultados da pesquisa de enterovírus em amostras de fezes, foram obtidas dos respectivos prontuários.

Os pacientes foram acompanhados desde a internação até a alta ou óbito, por meio de coletas semanais de amostras de fezes. A pesquisa de enterovírus foi executada no Serviço de Virologia do Instituto Adolfo Lutz, SP.

### *Coleta de amostra de fezes e isolamento dos vírus*

As coletas se fizeram por meio de "swab" retal e as amostras assim obtidas eram colocadas em tubos de vidro estéreis contendo 2,0 ml de solução de Hanks, enviadas imediatamente ao laboratório onde eram armazenadas a  $-70^{\circ}\text{C}$ , permanecendo nessas condições até o momento de seu processamento.

Para o isolamento dos enterovírus as amostras eram retiradas do refrigerador, descongeladas, adicionando-se, a seguir, 5 ml de solução de Hanks, com  $\text{pH} = 7,2 (\pm 0,1)$ , para lavar o algodão da zaragatoa. O material obtido era centrifugado sob refrigeração a  $4^{\circ}\text{C}$ , a 10.000 rpm, durante uma hora, e o sobrenadante transferido para um frasco de vidro estéril, adicionando-se 2.000 unidades de penicilina G cristalina, 1.000 miligramas de sulfato de estreptomicina e 2,5 miligramas de anfotericina B por mililitro de sobrenadante.

O material preparado era semeado em tubos contendo meio de manutenção de Eagle, utilizando-se células HEp-2 e Vero; a seguir, colocavam-se os tubos em estufa à temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$ , efetuando-se a primeira leitura microscópica para observação do efeito citopático 48 horas após a semeadura. As leituras subsequentes, respectivamente de células epiteliais humanas, e de rim de macaco, foram realizadas diariamente para detectar o efeito citopático, até a degeneração espontânea das células, o que ocorria, em geral, entre o sétimo e décimo dias. Quando não se observasse o efeito citopático nessa primeira passagem, repetia-se a semeadura mais duas vezes, a partir do inóculo inicial.

### *Tipagem dos enterovírus*

Efetuiu-se pela reação de neutralização, diluindo-se os vírus isolados, combinando-os em seguida com misturas de soros-padrão anti-enterovírus. Utilizaram-se diluições de 100 TCID<sub>50</sub> e 1000 TCID<sub>50</sub>, respectivamente, para tipagem dos poliovírus e dos demais enterovírus.

Tanto nas misturas como nos soros-padrão usados individualmente, as doses adotadas foram de aproximadamente 20 e 50 unidades neutralizantes, respectivamente, para os poliovírus e para os demais enterovírus. Para a tipagem dos três tipos de poliovírus utilizaram-se soros-padrão produzidos pelo Serviço de Virologia do Instituto "Adolfo Lutz" e, para



os demais enterovírus, usaram-se as "Séries de Soros de Melnick"<sup>29</sup>, fornecida pelo National Institute of Health, Bethesda, Maryland, E.U.A.

Não foi possível verificar, por meio de técnicas de determinação de marcadores genéticos, se os poliovírus isolados pertenciam a estirpes "selvagens" ou vacinais.

Para a análise estatística dos resultados aplicou-se o teste de qui-quadrado, sendo consideradas estatisticamente significantes as diferenças ao nível de 5,0%.

## RESULTADOS

No decorrer da presente pesquisa foram internados no "berçário do H.C." 139 recém-nascidos, dos quais 42 (30,2%) não foram estudados, seja pelo período de internação, que foi inferior ao intervalo de duas coletas sucessivas ou, ainda, por outros problemas operacionais.

As 97 crianças estudadas foram distribuídas, segundo os critérios já apresentados, nos grupos A, B e C constituídos, respectivamente, de 17, 25 e 55 recém-nascidos.

Os locais de residência e algumas características das habitações das famílias dos recém-nascidos pertencentes aos grupos A e C, que estiveram durante algum tempo em contato com o ambiente familiar, estão apresentados na tabela 1.

Das crianças do grupo B, que nasceram em outros hospitais e que foram transferidas desses para o "berçário do H.C.", 60,0% (15/25) era originária do Hospital Amparo Maternal, cuja clientela, estudada por Farina<sup>12</sup> em período superponível à presente pesquisa, foi caracterizada como economicamente carente e, em sua maioria, era constituída por migrantes. Os demais recém-nascidos desse grupo vieram, igualmente, de hospitais que atendem população de baixa renda.

Dos 97 recém-nascidos estudados, as medianas das idades na data da internação e do período de hospitalização no "berçário do H.C." foram, respectivamente, de 8 e 24 dias.

As freqüências de infecção por enterovírus observadas na amostra estudada e nos grupos A, B e C, estão apresentadas na tabela 2. Não se verificaram diferenças estatisticamente significantes.

Em relação ao sexo, não se observou diferença estatisticamente significativa entre as taxas de infecção por enterovírus.

A tabela 3 apresenta as taxas de infecção enterovírica das 44 crianças, pertencentes aos grupos A e C, das quais foi possível obter informações referentes ao número de irmãos. Verificou-se, nesse caso, diferença estatisticamente significativa entre a freqüência de infecção observada entre os recém-nascidos com três ou mais irmãos (63,6%) quando comparada à daqueles com dois ou menos irmãos (15,2%).

A distribuição dos casos de infecção, segundo a idade em dias, na data do primeiro isolamento do agente e a ordem cronológica da primeira amostra positiva, assim como, o tempo de internação e a freqüência de positividade para enterovírus na primeira amostra de fezes examinada e, ainda, a taxa de isolamento desses vírus conforme o mesmo tenha ocorrido no exame da primeira, segunda ou terceira amostra, encontram-se, respectivamente, nas tabelas 4, 5 e 6.

Os isolamentos de enterovírus efetuados, segundo o número de amostras examinadas, nos 47 recém-nascidos infectados, estão apresentados na tabela 7.

## DISCUSSÃO

A observação na presente pesquisa da taxa de 48,5% de infecção causada por enterovírus em recém-nascidos hospitalizados, ainda que não constitua relato inédito na literatura<sup>1, 14</sup>, impõe uma discussão cuidadosa de seus possíveis fatores determinantes, sejam os relacionados às condições do ambiente ou à vulnerabilidade de crianças, nessa faixa etária, a esses agentes.

Vários autores<sup>3, 13, 35</sup> verificaram que recém-nascidos, com título de anticorpos neutralizantes contra poliovírus inferiores a 128, são vulneráveis a infecção intestinal causada por esses vírus.

MELNICK *et alii*<sup>28</sup> salientaram que, mesmo em áreas de ampla disseminação de poliovírus, a população adulta apresenta em alta proporção títulos médios e baixos de anticorpos neutralizantes contra esses agentes. Trabalhos realizados em nosso meio<sup>33, 40, 43</sup>, pesquisando esses anticorpos em população adulta, obtiveram resultados concordes com os de MELNICK *et alii*<sup>28</sup>, NEVES *et alii*<sup>32</sup> e HUTLER *et alii*<sup>29</sup> verificaram baixos títulos de anticorpos maternos contra poliovírus em recém-nascidos estudados na Região da Grande São Paulo, o que vem mais uma vez corroborar a afirmativa dos autores inicialmente citados<sup>28</sup>, dado que os títulos desses anticorpos em recém-nascidos são iguais ou pouco inferiores aos da mãe<sup>27</sup>.

A forma de transmissão das infecções neonatais causadas por enterovírus, em geral, não difere da verificada em outras faixas etárias<sup>6</sup>, ficando sua freqüência condicionada a uma série de fatores do ambiente<sup>16, 28</sup>, principalmente os relacionados ao saneamento básico, condições habitacionais e hábitos de higiene pessoal.

As informações referentes ao local de residência e às condições habitacionais das famílias dos recém-nascidos pertencentes aos grupos A e C (tabela 1) permitem-nos caracterizá-las como pertencentes, em sua maioria, a extratos da população da Região da Grande São Paulo de baixo nível sócio-econômico e, portanto, vivendo em condições propícias à ocorrência de infecção precoce por enterovírus<sup>16, 18</sup>.

TABELA 1

*Local de residência, tipo de habitação e origem da água (de poço ou de abastecimento público) utilizados pelos familiares dos recém-nascidos  
Pertencentes aos grupos A e C*

Grupos	Recém-nascidos																	
	Local de residência dos familiares							Tipo de habitação dos familiares						Origem da água utilizada pelos familiares			Total	
	Município de São Paulo*				Outros Municípios da Grande São Paulo	Outros Municípios do Interior	Sem informação	Alvenaria					Outros tipos	Sem informações	Água de abastecimento público	Água de poço		Sem informação
	Zona Central	Zona intermediária	Zona Periférica	Total				1 cômodo	2 cômodo	3 ou + cômodos	Sem informações	Total						
A	1	4	2	7	10	—	—	1	—	—	5	6	4	7	2	8		7
C	4	11	10	25	17	3	10	9	4	2	11	26	11	18	9	21	25	55
Total	5 (6,9%)	15 (20,8%)	12 (16,7%)	32 (44,4%)	27 (37,5%)	3 (4,2%)	10 (13,9%)	10 (13,9%)	4 (5,5%)	2 (2,8%)	16 (22,2%)	32 (44,4%)	15 (20,8%)	25 (34,7%)	11 (15,3%)	29 (40,3%)	32 (44,4%)	72 (100,0%)

\* Classificação de LESER & BARBOSA<sup>25</sup>.

TABELA 2

*Infecção por enterovírus nos recém-nascidos pertencentes aos grupos A, B e C*

Grupos	Recém-nascidos examinados	Recém-nascidos infectados por								Recém-nascidos não infectados	
		Poliovírus		Coxsackievírus B		Outros enterovírus		Total		N.º	%
		N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%		
A	17	7	41,2	2	11,8	—	—	9	52,9	8	47,1
B	25	10*	40,0	2*	8,0	—	—	11	44,0	14	56,0
C	55	23**	41,8	3	5,5	1***	1,8	27	49,1	28	50,9
Total	97	40	41,2	7	7,2	1	1,0	47	48,5	50	51,5

\* Um recém-nascido com isolamentos sucessivos de poliovírus 1 e coxsackievírus B6.

\*\* Um recém-nascido com isolamentos sucessivos de poliovírus 1 e poliovírus 3.

\*\*\* Enterovírus não poliovírus, não tipado.

TABELA 3

*Infeção por enterovírus, segundo o número de irmãos, nos recém-nascidos examinados na primeira semana de internação e pertencentes aos grupos A e C*

In- fecção por enterovírus	Grupo A				Grupo C				Total			
	c/ 2 ou menos irmãos		c/ 3 ou mais irmãos		c/ 2 ou menos irmãos		c/ 3 ou mais irmãos		c/ 2 ou menos irmãos		c/ 3 ou mais irmãos	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
Presente	2	25,0	3	75,0	3	12,0	4	57,1	5*	15,2	7**	63,6
Ausente	6	75,0	1	25,0	22	88,0	3	42,9	28	84,8	4	36,4
Total	8	100,0	4	100,0	25	100,0	7	100,0	33	100,0	11	100,0

\* 5 poliovírus.

\*\* 4 poliovírus, 2 coxsackievírus B,1 enterovírus "não poliovírus".

TABELA 4

*Infecção por enterovírus, segundo a idade em dias, na data do primeiro isolamento do agente e a ordem cronológica da primeira amostra positiva, nos recém-nascidos pertencentes aos grupos A, B e C*

Idade (em dias)	Grupo A			Grupo B				Grupo C				Total				
	Amostra			Frequência acumulada		Amostra			Frequência acumulada		Amostra			Frequência acumulada		
	1. <sup>a</sup>	2. <sup>a</sup>	3. <sup>a</sup>	%	1. <sup>a</sup>	2. <sup>a</sup>	3. <sup>a</sup>	%	1. <sup>a</sup>	2. <sup>a</sup>	3. <sup>a</sup>	%	1. <sup>a</sup>	2. <sup>a</sup>	3. <sup>a</sup>	%
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
2	—	—	—	—	1	—	—	10,0	—	—	—	—	1	—	—	2,1
3	—	—	—	—	1	—	—	20,0	—	—	—	—	2	—	—	4,2
1 — 3	—	—	—	—	2	—	—	20,0	—	—	—	—	1	—	—	4,2
4	—	—	—	—	1	—	—	30,0	—	—	—	—	—	—	—	6,4
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6,4
6	2	—	—	22,2	2	—	—	50,0	—	—	—	—	4	—	—	14,9
7	—	—	—	22,2	1	—	—	60,0	—	—	—	—	1	—	—	17,0
1 — 7	2	—	—	22,2	6	—	—	60,0	—	—	—	—	8	—	—	17,0
8 — 14	2	—	—	44,4	4	1	—	100,0	4	—	—	14,8	10	1	—	40,4
15 — 21	2	—	—	66,7	—	—	—	100,0	5	1	—	37,0	7	1	—	57,4
22 — 28	1	—	—	77,8	—	—	—	100,0	8	—	—	66,6	9	—	—	76,6
29 ou +	2	—	—	100,0	—	—	—	100,0	2	4	3	100,0	4	4	3	100,0
Total	9	—	—	100,0	10	1	—	100,0	19	5	3	100,0	38	6	3	100,0

TABELA 5

*Infeção por enterovirus, segundo o tempo de internação na data da coleta da primeira amostra examinada, nos recém-nascidos pertencentes aos grupos A, B e C*

Tempo de internação (em dias)	Recém-nascidos	Grupo A			Grupo B			Grupo C			Total					
		Exami- nados	Casos positivos		Exami- nados	Casos positivos		Exami- nados	Casos positivos		Exami- nados	Casos positivos				
			N.º	Frequência acumulada %		N.º	Frequência acumulada %		N.º	Frequência acumulada %		N.º	Frequência acumulada %			
			%		%		%		%		%		%			
1 — 3	6	2	33,3	22,2	12	8	66,6	80,0	15	5	33,3	26,3	33	15	45,5	39,5
4 — 5	4	2	50,0	44,4	3	0	0,0	80,0	18	4	22,2	47,4	25	6	24,0	55,3
6 — 7	2	1	50,0	55,5	6	1	16,7	90,0	7	2	28,6	57,9	15	4	26,7	65,8
1 — 7	12	5	41,7	55,5	21	9	42,9	90,0	40	11	27,5	57,9	73	25	34,2	65,8
8 ou mais	5	4	80,0	100,0	4	1	25,0	100,0	15	8	53,3	100,0	24	13	54,2	100,0
Total	17	9	52,9	100,0	25	10	40,0	100,0	55	19	34,5	100,0	97	38	39,2	100,0

TABELA 6

*Infeção por enterovírus, conforme o isolamento do vírus tenha ocorrido ao exame da primeira, segunda ou terceira amostra de fezes, dos recém-nascidos pertencentes aos grupos A, B e C*

Amostras de fezes	Grupo A				Grupo B				Grupo C				Total			
	Recém-nascidos examinados N.º	Casos positivos			Recém-nascidos examinados N.º	Casos positivos			Recém-nascidos examinados N.º	Casos positivos			Número de recém-nascidos N.º	Casos positivos		
		N.º	%	Frequência acumulada		N.º	%	Frequência acumulada		N.º	%	Frequência acumulada		N.º	%	Frequência acumulada
Primeiras amostras	17	9	52,9	100,0	25	10	40,0	90,0	55	19	34,5	70,4	97	38	39,2	80,9
Segundas amostras de pacientes negativos na primeira	9	—	—	100,0	11	—	9,1	100,0	27	5	18,5	88,9	49	6	12,2	93,6
Terceiras amostras de pacientes negativos na primeira e segunda	5	—	—	100,0	8	—	—	100,0	12	3	25,0	100,0	25	3	12,0	100,0

TABELA 7

*Isolamentos de enterovírus, segundo o número de amostras examinadas, nos 47 recém-nascidos infectados*

Número de amostras examinadas	Recém-nascidos infectados	Amostras positivas para enterovírus									
		1		2		3		4		5 ou mais	
		N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
1	5	5	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—
2	18	4	22,2	14	77,8	—	—	—	—	—	—
3	17	4	23,5	3	17,6	10	58,9	—	—	—	—
4	4	3	75,0	—	—	—	—	1 *	25,0	—	—
5 ou +	3	—	—	2	66,7	—	—	—	—	1 **	33,3
Total	47	16	34,1	19	40,4	10	21,3	1 *	2,1	1 **	2,1

\* Período mínimo de eliminação do enterovírus: 32 dias.

\*\* Período mínimo de eliminação do enterovírus: 50 dias.



A verificação de frequência de infecção causada por enterovírus significativamente maior entre os recém-nascidos que possuíam três ou mais irmãos, quando comparada à dos demais (tabela 3), vem mais uma vez sugerir que determinadas condições do ambiente, especialmente o familiar, favorecem a ocorrência precoce de enterovirose<sup>17</sup>.

Vale registrar que o período em que se desenvolveu a presente pesquisa coincidiu com a época de maior incidência da poliomielite, na Região da Grande São Paulo, durante a década de 1970, quando foram especialmente atingidas as populações residentes em suas áreas periféricas, com alta proporção de casos (10,2%) já no primeiro semestre de vida abrangendo, inclusive, algumas crianças menores de três meses de idade<sup>42</sup>. Tal fato deve ser salientado, considerando-se que o comportamento das enterovirose em ambiente hospitalar tem, até certo ponto, correspondência com sua forma de apresentação na comunidade<sup>24, 25, 41</sup>.

Merecem considerações especiais as crianças pertencentes ao Grupo B pois, como não tiveram contato com o ambiente familiar, foram seguramente infectadas pelos enterovírus ou em hospital — seja no “berçário do H.C.”, seja no hospital de onde vieram transferidas — ou com participação materna, tanto pela transmissão por via transplacentária, como durante a passagem pelo canal de parto<sup>1, 2, 5, 21, 38</sup>.

Ainda que as informações disponíveis não sejam conclusivas, poderíamos incriminar como introdutores de enterovírus no ambiente hospitalar tanto os recém-nascidos infectados no domicílio, em período anterior à internação — no caso das crianças pertencentes aos grupos A e C — como também os membros da equipe responsável pelo atendimento no “berçário do H.C.”<sup>24</sup>.

Porém, não se pode rejeitar a hipótese da participação materna como fonte de infecção<sup>2, 22, 36</sup>, cabendo salientar o isolamento do agente, em crianças do Grupo B, já no segundo e terceiro dias de vida (tabela 4). Nesse caso, vale mencionar a possibilidade, mesmo em indivíduos com anticorpos neutralizantes homotípicos, da reinfeção por enterovírus<sup>15, 17, 18, 22</sup>.

As tabelas 5 e 6 mostram que das 38 crianças, cujo isolamento de enterovírus ocorreu ao exame da primeira amostra, em 65,8% esse fato se deu durante a primeira semana de internação. Por outro lado, em 80,9% dos 47

recém-nascidos infectados, o diagnóstico se fez por meio da primeira amostra examinada. Esses resultados nos permitem inferir que boa parte, senão a maioria, das crianças atingidas adquiriram tais infecções em período anterior ao ingresso no “berçário do H.C.”.

A ocorrência de infecção cruzada no “berçário do H.C.” não pode ser afastada, uma vez que a taxa de isolamento de enterovírus na terceira amostra examinada, em crianças que apresentaram as duas primeiras negativas, foi de 12,0%. Essa possibilidade se fortalece ao verificarmos (tabela 7) que 65,9% e 25,5% dos recém-nascidos infectados eliminaram os enterovírus na enfermaria por períodos mínimos de, respectivamente, duas e três semanas, o que os coloca como fontes de infecção de considerável importância em ambiente hospitalar.

## CONCLUSÕES

1. Dos 97 recém-nascidos estudados, 47 (48,5%) apresentaram infecção intestinal por enterovírus em algum momento da sua internação no “berçário do H.C.”.

2. As taxas de infecção por enterovírus nos Grupos A, B e C foram de, respectivamente, 52,9%, 44,0% e 49,1%, não havendo entre elas diferença estatisticamente significativa.

3. A infecção enterovírica ocorreu precocemente, pois 17,0% e 40,4% dos casos foram diagnosticados, respectivamente, nos primeiros 7 e 14 dias de vida.

4. Os recém-nascidos comportaram-se como importantes fontes de infecção de enterovírus dado que em 65,9% e 25,5% das 47 crianças infectadas foi possível comprovar a eliminação desses agentes por período mínimo de, respectivamente, duas e três semanas.

## AGRADECIMENTOS

As Sras. Daisy Dias Baptista Stape e Cleide Roque dos Santos, da equipe da Comissão de Controle de Infecções Hospitalares do Hospital das Clínicas da FMUSP e à Sra. Elza Franco de Lima Vieira, Sr. Bienvenido Saez Martins, Sra. Lúcia Souto Giusti, Sra. Clélia Maria Larosa e Sr. José Soares Sobrinho, técnicos de laboratório do Serviço de Virologia do Instituto Adolfo Lutz, pela significativa colaboração na execução desta pesquisa.

RIALAG/559

WALDMAN, E.A.; HUTZLER, R.U. & LACERDA, J.P.G. — Enterovirus infect-level newborns admitted to a general hospital ward in the city of São Paulo, 43(1/2):55-68, 1983.

ABSTRACT: Viral intestinal infections were studied in low-socio-economic level newborns admitted to a general hospital ward in the city of São Paulo, Brazil. A rectal swab was obtained weekly from admission to discharge or death. The median of hospital stay was 24 days. Of the 97 newborns, 48.5% had infection by viruses at some moment during hospital stay. Poliovirus 1 was the most frequent (79.6%) among the positive specimens. Of the children with enteroviruses in the intestine 65.9% eliminated virus for not less than two weeks while 25-5% did this for at least three weeks. The possible determinants of the early viral infections and the introduction of these infections into the hospital are discussed.

DESCRIPTORS: enterovirus infection, newborn, occurrence; cross infection, newborn; newborn, cross infection, newborn, enterovirus infection, occurrence.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BERKOVICH, S. & SMITHWICK, E.M. — Transplacental infection due to Echovirus type 22. *J. Pediat.*, 72:94-6, 1968.
2. BRIGHTMAN, V.J., MCNAIR, T.F., WES-TPHAL, M. & BOGGS, T.R. — An outbreak of Coxsackie B-5 virus infection in a newborn nursery. *J. Pediat.*, 69:179-92, 1966.
3. CAMPILLO — SAINZ, C., HERNANDEZ, A.O., MACÍAS, J.M. & NAVA, S.E. — Immunization of newborn children with living oral trivalent poliovirus vaccine. *J. Bact.*, 84:446-50, 1962.
4. CANDEIAS, J.A.N., IARIA, S.T., CHRISTOVÃO, D.A., SCHIMID, A.W., TAUNAY, A.E. & COTILLO, Z.L.G. — Pesquisa de enterobactérias e enterovirus em crianças normais e com quadros diarréicos agudos. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 2:194-206, 1968.
5. CARVALHO, R.P. de S. — Contribuição para o estudo dos enterovirus. *Folia clín. biol.*, 35:1-47, 1966.
6. CHERRY, J.D. Enteroviruses. In: REMINGTON, J.S. & KLEIN, J., ed. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. Philadelphia, Saunders, 1976. p. 366-413.
7. CHERRY, J.D.; SORIANO, F. & JAHN, C.L. — Search for perinatal viral infection. A prospective, clinical, virologic and serologic study. *Amer. J. Dis. Child.*, 116:245-50, 1968.
8. CHRISTOVÃO, D.A., CANDEIAS, J.A.N. & IARIA, S.T. — Condições sanitárias das águas de irrigação de hortas do município de São Paulo. II — Isolamento de virus entéricos. *Rev. Saúde públ.*, São Paulo, 1:12-7, 1967.
9. CRAMBLETT, H.G., HAYNES, R.E., AZIMI, P.H., HILTY, M.D. & WILDER, M.H. — Nosocomial infection with echovirus type II in handicapped and premature infants. *Pediatrics.*, 51:603-7, 1973.
10. CORRADINI, H.B., DINIZ, E.M.A., RAMOS, J.L.A. & VAZ, F.A.C. Artrogripose múltipla congênita. Apresentação de cinco casos. *Rev. Hosp. Clín. S. Paulo*, 34:28-33, 1979.
11. EICHENWALD, H.F. & KOTSEVALOV, O. Immunologic responses of premature and full-term infants to infection with certain viruses. *Pediatrics.*, 25:829-39, 1960.
12. FARINA, E.B. — Relação entre a assistência pré-natal e o peso da criança ao nascer: aspectos biológicos e sócio-econômicos. São Paulo, 1976. [Dissertação de Mestrado — Escola Pós-graduada de Ciências Sociais da Fundação Escola de Sociologia e Política de São Paulo].
13. FARMER, K. & AMSTRONG, L.V. The serological response of neonates to oral poliovirus vaccine. *N.Z. med. J.*, 70:168-70, 1969.
14. FARMER, K. & PATTEN, P.T. An outbreak of Coxsackies B5 infection in a special care unit for newborn infants. *N.Z. med.J.*, 68:86-9, 1968.

15. FOX, J.P., GELFAND, H.M., LeBLANC, D.R. & CONWELL, D.P. A continuing study of the acquisition of natural immunity to poliomyelitis in representative Louisiana households. *Amer. J. publ. Hlth.*, 46:283-94, 1956.
16. FOX, J.P., GELFAND, H.M., LeBLANC, D.R. & CONWELL, D.P. — Studies on the development of natural immunity to poliomyelitis in Luisiana. I. Over-all plan, methods and observations as to patterns of seroimmunity in the study croup. *Amer. J. Hyg.*, 65:344-66, 1957.
17. GELFAND, H.M., LeBLANC, D.R., FOX, J.P. & COWELL, D.P. — Studies on the development of natural immunity to poliomyelitis in Luisiana. II. Description and analysis of episodes of infection observed in studie group households. *Amer. J. Hyg.*, 65:367-385, 1957.
18. HORSTMANN, D.M., PAUL, J.R., MELNICK, J.L. & DEUTSCH, J.V. — Infection induced by oral administration of attenuated poliovirus to persons possessing homotypic antibody. *J. exper. Med.*, 106: 159-77, 1957.
19. HUTZLER, R.U. — Contribuição ao estudo das Estafilococcias Hospitalares. São Paulo, 1974. (Tese de docência livre — Faculdade de Medicina — USP).
20. HUTZLER, R.U., FUJITA, M., WALDAN, E.A., AYUB, M.A., FERRARI, F.L., PINTO, P.R.P., CURY, P.C., KIM, J.S. & MATHEUS, J.G. — Anticorpos neutralizantes contra poliovírus em soros de recém-nascidos antes e após imunização em massa da população brasileira de zero a cinco anos de idade, São Paulo, Brasil. 1980. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* (no prelo).
21. KATZ, S.L. — Case records of the Massachusetts-General Hospital. Case 20-1965. *New Eng. J. Med.*, 272:907-14, 1965.
22. KOGON, A., SPIGLAND, I., FROTHINGHAN, T.E. ELUEBACK, L., WILLIAMS, C., HALL, C.E. & FOX, J.P. — The virus watch program: a continuing surveillance of viral infections in metropolitan New York families. VII. Observations on viral excretion, seroimmunity, intra familial spread and illness association in coxsackie and echovirus infections. *Amer. J. Epidem.*, 89:51-61, 1969.
23. LACERDA, J.P.G., VIEIRA, E.F.L., MARTIN, B.S. & GIUSTI, L.S. — Isolamento e identificação de poliovírus em São Paulo de 1967 a 1970. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 31:21-5, 1971.
24. LAPINLEIMU, K. & HAKULINEN, A. — A hospital outbreak caused by echo virus type 11 among newborn infants. *Ann. clin. Res.*, 4:133-7, 1972.
25. LAPINLEIMU, K. & KASKI, U. — An outbreak caused by coxsackievirus B5 among newborn infants. *Ann. clin. Res.*, 4:27-30, 1972.
26. LESER, W.S.P. & BARBOSA, V. — Relacionamento de certas características populacionais com a mortalidade infantil no município de São Paulo, de 1950 a 1970. *Probl. bras.*, S. Paulo, 10:17-23, 1972.
27. MARTINS da SILVA, M., PREM, K.A., JOHNSON, E.A., McKELVEY, J.L. & SYVERTON, J.T. — Response of pregnant-women and their infants to poliomyelitis vaccine. *J. Amer. med. Ass.*, 168:1-5, 1958.
28. MELNICK, J.L., WALTON, M., ISACSON, P. & CARDWELL, W. — Environmental studies of endemic enteric virus infections. I. Community seroimmune patterns and poliovirus infection rates. *Amer. J. Hyg.*, 65:1-28, 1957.
29. MELNICK, J.L., WERNER, H.A. & PHILIPS, C.A. — Enterovirus. In. LENETTE E.H. & SCHMIDT, N.J., ed. — *Diagnostic procedures for viral rickettsial and chlamydial infections*. 5<sup>th</sup> ed. Washington, American Public Health Association, 1979. p. 471-534.
30. MIDULLA, M., BISCOGLI, A.M.A., BERTOLIM, L. & BALDUCCI, L. — Ricerche virologiche in 43 neonati com malattia respiratorie acute. *Minerva pediatr.*, 19: 767-9, 1967.
31. MCSCOVICI, C. & MAISEL, J. — Intestinal viruses of newborn and older pretermatures. *Amer. J. Dis. Child.*, 101:771-7, 1961.
32. NEVES, W.E. — Alguns aspectos da poliomielite no primeiro semestre de vida. Estudo de 241 casos. S. Paulo, 1972. [Tese — Faculdade de Medicina - USP]
33. NIEDERMAN, J.C., HENDERSON, J.R., OPTON, E.M., BLACK, F.L. & SKURNOVA K. — A nationwide serum survey of Brazilian military recruits, 1964. II. Antibody patterns with arboviruses, polioviruses, measles and mumps. *Amer. J. Epidem.*, 86:319-29, 1967.
34. PESSOA, G.V.A. — Contaminação por enterobactérias em berçários do município de São Paulo. S. Paulo, 1978. [Tese de Docência livre — Instituto de Ciências Biomédicas - USP].
35. SABIN, A.B., MICHAELS, R.H., KRUGMAN, S., EIGER, M.E., BERMAN, P.H. & WARREN, J. — Effect of oral poliovirus vaccine in newborn children. I. Excretion of virus after ingestion of large doses of Type I or of mixture of all three types, in relation to level of placentally transmitted antibody. *Pediatrics.*, 31:623-39, 1963.

36. SABIN, A.B., RAMOS-ALVAREZ, M., ALVAREZ-AMEZQUITA, J., PELON, W., MICHAELS, R.H., SPIGLAND, I., KOCH, M.A. & BARNES, J.M. — Live orally given poliovirus vaccine. Effects of rapid mass immunization on population under conditions of massive enteric infection with other viruses. *J. Amer. med. Ass.*, 173:1521-6, 1960.
37. SANDERS, D.Y. & CRAMBLETT, H.G. — Vital infections in hospitalized neonates. *Amer. J. Dis. Child.*, 116:251-6, 1968.
38. SCHAEFFER, M., FOX, M.J. & LI, C.P. — Intrauterine poliomyelitis infection. Report of a case. *J. Amer. med. Ass.*, 155: 248-50, 1954.
39. SCHMID, A.W., STEWIEN, K.E. & CANDEIAS, J.A.N. — Evidenciação de vírus patogênicos humanos em filés de peixe. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 11:405-0, 1977.
40. SILVA, N.N. — Imunidade natural à poliomielite em Porto Alegre, Brasil. *Hospital*, Rio de Janeiro, 58:109-18, 1960.
41. SWENDER, P.T., SHOTT, R.T. & WILLIAMS, M.L. — A community and intensive care nurse outbreak of Coxsackievirus B5 meningitis. *Amer. J. Dis. Child.*, 127:43-5, 1974.
42. WALDMAN, E.A. — Ocorrência de infecção por enterovírus em recém-nascidos em Unidade de Internação de Hospital Geral Universitário. São Paulo. 1982. [Tese Faculdade de Medicina da USP]
43. WALDMAN, E.A.; BARBOSA, V.; FUJITA, M.; WALDMAN, C.C.S. & LACERDA, J.P.G. — Aspectos epidemiológicos e imunitários da poliomielite em crianças menores de um ano em área da Região da Grande São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 17:9-22, 1983.
44. WARREN, R.J., LEPOW, M.L., BARTSCH, G.E. & ROBBINS, F.C. — The relationship of maternal antibody, breast feeding, and age to the susceptibility of newborn infants to infection with attenuated polioviruses. *Pediatrics.*, 34:4-13, 1964.

Recebido para publicação em 8 de maio de 1983.

## FRAUDES DA PIMENTA DO REINO PRETA (*PIPER NIGRUM*) MOÍDA \*

Neusa Vitória Valério SILVEIRA \*\*  
Claydes de Quadros ZAMBONI \*\*  
Mickiko Y. TAKAHASHI \*\*

RIALAG/560

SILVEIRA, N.V.V.; ZAMBONI, C.Q. & TAKAHASHI, M.Y. — Fraudes da pimenta do reino preta (*Piper nigrum*) moída. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 43(1/2): 69-79, 1983.

**RESUMO:** Foram analisadas 103 amostras de pimenta do reino preta moída, comercializada na cidade de São Paulo e 15 da mesma pimenta, comercializada na cidade do Rio de Janeiro, com a finalidade de verificar fraudes e principalmente detectar semente de mamão moída que, conforme várias denúncias, estaria sendo adicionada a esse tipo de produto. Foram também estudadas amostras de pimenta do reino preta moída, de semente de mamão moída, e de misturas de pimenta do reino preta e semente de mamão moídas, preparadas no laboratório. As amostras foram submetidas a análise físico-química, exame microscópico e cromatografia em camada delgada. Não foi detectada a presença de semente de mamão nas amostras do comércio. Entretanto, o exame microscópico revelou que em 60% das amostras havia fraude, sendo identificados como adulterantes amidos de milho, trigo e mandioca, farinha de trigo, fubá, farinha de mandioca, pedúnculos da pimenta do reino, e matéria arenosa. Nas misturas preparadas foi possível observar maior sensibilidade ao exame microscópico em relação à cromatografia em camada delgada, pois este método somente detectou semente de mamão em misturas contendo 20% dessas sementes, enquanto que o exame microscópico detectou esse adulterante na proporção de 1%. Foi sugerida a redução dos limites permitidos pela legislação em vigor do resíduo mineral fixo de 7% para 4%, e do resíduo mineral fixo insolúvel em ácido clorídrico (1+9), de 1,5% para 1%. O extrato alcoólico estava abaixo dos limites exigidos pela legislação em 67% das amostras.

**DESCRITORES:** pimenta do reino preta (*Piper nigrum*) moída, análise; pimenta do reino preta (*Piper nigrum*) moída, detecção de fraudes; mamão (*Carica papaya*), semente, análise.

### INTRODUÇÃO

Em nosso trabalho de pesquisa temos verificado que a fraude é sempre mais comum e possível nos produtos alimentícios que se apresentam finamente divididos, como os pós.

A pimenta do reino moída também não foge a essa regra, ainda mais por ser um condimento relativamente caro.

Uma das características da pimenta do reino fraudada é o baixo teor de extrato alcoólico.

Em trabalho realizado por BUENO<sup>2</sup>, foram estudadas 100 amostras de pimenta do reino moída recebidas para análise e mais 16 amostras preparadas no laboratório a partir de pimenta do reino em grão. A autora verificou que, em média, o extrato era de 9,2%, tendo sugerido, portanto, a diminuição da exigência do teor de extrato alcoólico que, na legislação em vigor na época, era de 15%. A legislação atual exige 8% para a pimenta do reino preta e 7% para a branca calculados na substância seca<sup>1,9</sup>.

\* Realizado na Seção de Óleos, Gordura e Condimentos, Seção de Microscopia Alimentar e Seção de Aditivos do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP. Apresentado no 1.º Congresso de Farmácia e Bioquímica da Baixada Santista, Guarujá, SP, nov./dez. 1983.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

Entretanto, nas várias análises efetuadas, raramente conseguimos um extrato alcoólico superior a 9%.

Em 1981 houve uma denúncia de que estariam substituindo a pimenta do reino moída por semente de mamão (*Carica papaya*) seca e moída. Idealizamos então o presente trabalho cuja finalidade é a de verificar as fraudes da pimenta do reino moída, em relação às características físico-químicas, ao exame microscópico e à cromatografia em camada delgada.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 103 amostras de 47 marcas de pimenta do reino, moída, de julho de 1981 a fevereiro de 1983. As amostras foram colhidas pela Divisão de Alimentação Pública nos vários supermercados e mercearias da Capital. Foram analisadas também 15 amostras de 5 marcas diferentes de pimenta do reino moída, adquiridas na cidade do Rio de Janeiro.

A fim de verificar o comportamento das misturas de pimenta do reino e semente de mamão, foram preparadas amostras de pimenta do reino em grão, moída no laboratório, de sementes de mamão secas e moídas e de misturas de pimenta do reino e semente de mamão nas proporções de 1%, 5% e 10% de semente de mamão moída para a pimenta.

### Análise físico-química

Esta análise foi baseada nas Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz<sup>7</sup>.

### Cromatografia em camada delgada

O extrato alcoólico obtido foi submetido a cromatografia em camada delgada, obedecendo à seguinte técnica:

#### Placas

As placas de vidro de 20 x 20 cm para a cromatografia foram preparadas com a mistura de uma parte de sílica gel G 60 e duas partes de água, secas ao ar livre e colocadas em estufa a 120°C, por duas horas.

#### Solvente

Benzeno .....	90 ml
Acetato de etila .....	10 ml
Ácido acético glacial .....	1 ml

#### Revelador

Ácido sulfúrico 1:1

### Procedimento

**Extrato alcoólico das amostras de pimenta adquiridas no comércio** — Coloque 25 µl de solução de extrato alcoólico a 50% na placa. Corra o cromatograma até atingir a altura de aproximadamente 15 cm. Seque ao ar livre. Pulverize com o revelador e, em seguida, coloque em estufa a 105°C, até as manchas aparecerem.

**Extrato em acetato de etila das amostras preparadas no laboratório** — Pese 2 g de semente de mamão moída, 2 g de pimenta do reino e 2 g de cada uma das misturas preparadas no laboratório. Adicione 25 ml de ace-

tato de etila e deixe em repouso por 4 horas. Filtre, aspire 25 µl do filtrado e pingue na placa. Corra o cromatograma até atingir a altura de aproximadamente 15 cm. Seque ao ar livre. Pulverize com o revelador e, em seguida, coloque em estufa a 105°C até as manchas aparecerem.

**Leitura do cromatograma** — A amostra de semente de mamão apresentou manchas lilases no ponto de aplicação, manchas roxas em Rf = 0,40, e manchas fluorescentes na linha do "front".

A amostra de pimenta do reino apresentou um aglomerado fortemente colorido de rosa, marron, azul, marron claro e cauda mais clara nesses tons. Na linha do "front" apresentou manchas de cor vinho-claro. Nas misturas preparadas, não se distinguiram manchas características de semente de mamão porque foram encobertas pelas manchas de pimenta do reino. A distinção das manchas só foi verificada com proporção superior a 20% de semente de mamão para a pimenta.

### Exame microscópico

O exame microscópico constou da identificação de elementos histológicos da pimenta do reino e de elementos histológicos da planta de origem que não possuíam as características de condimento. Foi feita também a pesquisa de sujidades, principalmente areia e terra. A técnica empregada para este exame foi a descrita em Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz<sup>8</sup>, com algumas modificações:

**Pesquisa de amidos estranhos ao produto** — Faça lâmina direta do condimento em pó para verificar a presença destes amidos.

**Pesquisa de elementos histológicos estranhos à composição normal do produto** — Pese de 0,5 a 1 g do condimento em pó em vidro de relógio ou cápsula de porcelana, junte 20 ml de solução de hipoclorito de sódio; deixe em repouso por uma hora; filtre em funil de haste longa, usando papel de pregas; lave várias vezes com água para retirar o excesso de hipoclorito. Retire o papel do funil, coloque em placa de Petri e faça lâminas usando água glicerinada e lugol para pesquisa de elementos histológicos estranhos à composição normal do produto. A filtração pode ser também executada a vácuo, usando funil de Büchner. Os elementos histológicos característicos da pimenta do reino e da semente de mamão são descritos por WINTON & WINTON<sup>10, 11</sup>, e os da pimenta do reino, por MENEZES JR.<sup>4</sup>, PARRY<sup>5</sup> e PEARSON<sup>6</sup>.

**Pesquisa de areia e terra** — Em um copo cônico contendo 60 ml de clorofórmio, coloque aos poucos 10 g da amostra sobre a superfície do clorofórmio. A areia e a terra sedimentam imediatamente. Decante o clorofórmio e examine o resíduo ao microscópio estereoscópico.

## RESULTADOS

Os resultados obtidos estão relacionados nas tabelas 1, 2, 3 e 4, e figura, nas páginas seguintes.

TABELA 1

*Determinações físico-químicas, identificação microscópica e por cromatografia em camada delgada, em amostras de pimenta do reino moída comercializada nas cidades de São Paulo e do Rio de Janeiro*

(*Continua*)

Amostra n.º	Determinações físico-químicas				Identificação microscópica	Identificação por Cromatografia em camada delgada
	Substâncias voláteis a 105°C g/100 g (p/p)	Extrato alcoólico na substância seca g/100 g (p/p)	Resíduo mineral fixo g/100 g (p/p)	Resíduo mineral fixo insolúvel em HCl (1+9) g/100 g (p/p)		
1	10,78	7,61	3,97	0,85	pimenta, milho	pimenta
2	11,91	6,99	4,16	0,97	pimenta, milho	pimenta
3	10,69	2,20	10,40	4,41	pimenta, milho, matéria arenosa	pimenta
4	10,75	6,95	4,05	0,97	pimenta, milho	pimenta
5	11,13	2,52	2,57	0,86	pimenta, milho	pimenta
6	11,84	3,37	1,10	0,15	pimenta	pimenta
7	10,95	3,06	3,34	0,15	pimenta	pimenta
8	9,68	4,62	3,53	0,04	pimenta, trigo, milho	pimenta
9	10,54	7,63	3,77	0,91	pimenta, milho	pimenta
10	12,19	7,86	3,86	0,19	pimenta, milho	pimenta
11	11,27	9,49	4,22	0,43	pimenta	pimenta
12	10,82	4,22	6,97	2,46	pimenta, milho	pimenta
13	11,24	4,47	5,48	1,55	pimenta, milho, matéria arenosa	pimenta
14	11,34	5,04	3,55	0,25	pimenta, milho	pimenta
15	10,02	4,20	7,22	2,41	pimenta, milho matéria arenosa	pimenta
16	10,55	4,59	5,99	2,54	pimenta, milho matéria arenosa	pimenta
17	11,57	7,56	5,02	0,41	pimenta, milho matéria arenosa	pimenta
18	10,81	7,32	3,77	0,10	pimenta	pimenta
19	10,43	3,36	6,77	3,90	pimenta, milho matéria arenosa	pimenta
20	11,12	2,79	3,96	6,89	pimenta, milho, matéria arenosa	pimenta
21	10,39	2,12	5,49	3,55	pimenta, milho, matéria arenosa	pimenta

(continuação)

Amostra n.º	Determinações físico-químicas				Identificação microscópica	Identificação por Cromatografia em camada delgada
	Substâncias voláteis a 105°C g/100 g (p/p)	Extrato alcoólico na substância seca g/100 g (p/p)	Resíduo mineral fixo g/100 g (p/p)	Resíduo mineral fixo insolúvel em HCl (1+9) g/100 g (p/p)		
22	10,69	3,81	6,14	3,51	pimenta, milho, matéria arenosa	pimenta
23	10,92	4,63	7,82	4,67	pimenta, milho, matéria arenosa	pimenta
24	11,02	3,20	3,86	0,03	pimenta	pimenta
25	11,55	6,53	4,21	0,77	pimenta, milho, matéria arenosa	pimenta
26	11,78	6,27	4,93	0,58	pimenta, milho, matéria arenosa	pimenta
27	10,91	2,76	5,23	0,14	pimenta, matéria arenosa	pimenta
28	11,77	1,65	4,46	2,60	pimenta, milho, matéria arenosa	pimenta
29	11,39	6,32	3,64	0,08	pimenta, matéria arenosa	pimenta
30	12,57	9,15	0,87	0,03	pimenta	pimenta
31	12,19	3,34	2,82	0,14	pimenta	pimenta
32	12,63	7,63	4,18	0,40	pimenta, matéria arenosa	pimenta
33	11,10	10,37	4,85	0,03	pimenta	pimenta
34	12,91	9,11	1,18	0,23	pimenta	pimenta
35	13,14	9,99	0,93	0,01	pimenta	pimenta
36	12,54	10,24	4,42	0,57	pimenta	pimenta
37	12,33	9,81	4,53	0,55	pimenta	pimenta
38	10,58	5,92	4,66	1,04	pimenta, milho, matéria arenosa	pimenta
39	10,88	9,66	4,29	0,87	pimenta mandioca	pimenta
40	12,02	7,34	3,65	0,62	pimenta	pimenta
41	12,37	6,49	3,59	0,38	pimenta	pimenta
42	12,67	6,22	3,59	0,28	pimenta	pimenta
43	10,64	8,26	3,85	0,40	pimenta	pimenta
44	11,55	8,09	3,60	0,05	pimenta	pimenta
45	10,80	4,28	6,00	1,96	pimenta, milho	pimenta
46	10,96	5,38	4,24	0,70	pimenta, milho	pimenta
47	11,86	1,41	6,38	3,83	pimenta, milho	pimenta
48	11,33	8,90	4,29	0,61	pimenta	pimenta
49	11,10	6,71	3,46	0,55	pimenta, milho	pimenta



(continuação)

Amostra n.º	Determinações físico-químicas				Identificação microscópica	Identificação por Cromatografia em camada delgada
	Substâncias voláteis a 105°C g/100 g (p/p)	Extrato alcoólico na substância seca g/100 g (p/p)	Resíduo mineral fixo g/100 g (p/p)	Resíduo mineral fixo insolúvel em HCl (1+9) g/100 g (p/p)		
50	10,50	2,90	9,58	6,53	pimenta, elemento histológico do pedúnculo, milho, matéria arenosa	pimenta
51	11,41	7,49	4,17	0,72	pimenta, milho	pimenta
52	10,83	7,59	3,46	0,50	pimenta	pimenta
53	10,55	4,53	3,50	0,64	pimenta	pimenta
54	10,84	1,33	5,89	2,59	pimenta, milho	pimenta
55	11,32	7,28	3,34	0,69	pimenta, milho	pimenta
56	10,72	9,11	6,43	0,11	pimenta	pimenta
57	12,22	7,69	4,79	0,93	pimenta, milho	pimenta
58	12,48	5,57	2,65	0,01	pimenta, milho	pimenta
59	10,26	3,85	6,28	2,02	pimenta, milho	pimenta
60	11,73	7,19	3,68	0,38	pimenta, milho, matéria arenosa	pimenta
61	12,22	7,92	4,15	0,37	pimenta	pimenta
62	11,49	7,28	3,71	0,20	pimenta	pimenta
63	10,73	3,78	5,08	0,18	pimenta, matéria arenosa	pimenta
64	10,23	1,13	11,69	8,10	pimenta, milho, matéria arenosa	pimenta
65	11,24	7,23	5,51	1,81	pimenta, matéria arenosa	pimenta
66	10,97	2,84	5,96	2,82	pimenta, milho, matéria arenosa	pimenta
67	11,95	7,31	3,31	0,14	pimenta	pimenta
68	9,61	2,27	14,73	11,75	pimenta, milho, matéria arenosa	pimenta
69	9,80	7,05	10,96	5,75	pimenta, matéria arenosa	pimenta
70	9,58	7,62	4,40	0,16	pimenta, matéria arenosa	pimenta
71	11,01	7,67	3,74	0,23	pimenta, matéria arenosa	pimenta
72	11,15	7,78	4,26	0,43	pimenta, matéria arenosa	pimenta
73	10,43	5,94	12,92	8,32	pimenta, erva-doce, matéria arenosa	pimenta

(continuação)

Amostra n.º	Determinações físico-químicas				Identificação microscópica	Identificação por Cromato- grafia em ca- mada delgada
	Substâncias vo- láteis a 105°C g/100 g (p/p)	Extrato alcoóli- co na substân- cia seca g/100 g (p/p)	Resíduo mineral fixo g/100 g (p/p)	Resíduo mineral fixo insolúvel em HCl (1+9) g/100 g (p/p)		
74	11,22	2,33	3,61	1,66	pimenta, mi- lho, matéria arenosa	pimenta
75	10,86	10,30	5,84	1,07	pimenta, ma- téria arenosa	pimenta
76	10,96	8,01	3,37	0,12	pimenta	pimenta
77	10,97	8,41	3,08	0,16	pimenta	pimenta
78	10,84	2,55	2,54	0,71	pimenta, milho	pimenta
79	10,99	9,70	3,91	0,20	pimenta	pimenta
80	12,45	5,42	3,23	0,42	pimenta, mi- lho, matéria arenosa	pimenta
81	11,95	7,31	3,30	0,14	pimenta, mi- lho, matéria arenosa	pimenta
82	11,09	8,55	3,45	0,17	pimenta	pimenta
83	12,29	3,95	3,89	0,47	pimenta, milho	pimenta
84	12,14	4,29	3,24	0,16	pimenta, ele- mentos his- tológicos do pedúnculo de pimenta do reino	pimenta
85	10,99	4,03	3,30	1,11	pimenta, milho	pimenta
86	10,98	2,48	3,03	4,81	pimenta, mandioca, substância amilífera alterada, matéria arenosa	pimenta
87	11,15	8,99	3,97	0,01	pimenta	pimenta
88	10,66	9,04	4,49	1,06	pimenta	pimenta
89	11,25	7,44	3,99	0,02	pimenta, milho	pimenta
90	9,42	7,06	6,00	2,62	pimenta, ele- mentos his- tológicos do pedúnculo	pimenta
91	10,88	2,17	3,65	5,54	pimenta, mi- lho, elemen- tos histológi- cos do pe- dúnculo, ma- téria arenosa	pimenta
92	10,73	4,68	5,82	3,07	pimenta, mi- lho, matéria arenosa	pimenta

(conclusão)

Amostra n.º	Determinações físico-químicas				Identificação microscópica	Identificação por Cromatografia em camada delgada
	Substâncias voláteis a 105°C g/100 g (p/p)	Extrato alcoólico na substância seca g/100 g (p/p)	Resíduo mineral fixo g/100 g (p/p)	Resíduo mineral fixo insolúvel em HCl (1+9) g/100 g (p/p)		
93	10,61	7,24	3,70	0,21	pimenta	pimenta
94	10,76	3,39	4,98	0,61	pimenta	pimenta
95	12,26	7,28	4,23	0,56	pimenta, matéria arenosa	pimenta
96	10,87	6,42	4,54	0,32	pimenta, milho	pimenta
97	11,55	5,90	4,75	0,50	pimenta, milho	pimenta
98	11,10	10,57	4,00	0,70	pimenta	pimenta
99	11,10	8,77	6,35	6,05	pimenta, matéria arenosa	pimenta
100	12,90	9,41	3,90	0,05	pimenta	pimenta
101	10,60	3,97	6,12	1,97	pimenta, milho, matéria arenosa	pimenta
102	11,56	7,05	1,55	0,72	pimenta	pimenta
103	10,64	8,26	3,85	0,40	pimenta	pimenta
104	10,54	10,94	1,00	0,06	pimenta	pimenta
105	11,70	7,81	6,90	0,40	pimenta, matéria arenosa	pimenta
106	10,97	8,10	3,47	0,00	pimenta	pimenta
107	9,22	10,61	4,25	0,07	pimenta	pimenta
108	12,02	8,86	3,47	0,05	pimenta	pimenta
109	11,40	8,96	12,10	3,95	pimenta, matéria arenosa	pimenta
110	11,39	9,04	3,65	0,45	pimenta	pimenta
111	10,43	4,83	9,33	5,52	pimenta, matéria arenosa, elementos histológicos do pedúnculo	pimenta
112	10,89	8,43	4,20	0,04	pimenta	pimenta
113	11,17	5,66	5,28	2,03	pimenta, milho, matéria arenosa	pimenta
114	10,46	8,56	3,62	0,52	pimenta	pimenta
115	12,43	7,35	4,45	0,18	pimenta	pimenta
116	10,97	8,53	3,98	0,00	pimenta	pimenta
117	10,73	7,39	3,45	0,37	pimenta	pimenta
118	10,73	8,41	5,76	0,70	pimenta	pimenta

\* As amostras de n.º 1 a 104 são de pimenta do reino moída adquirida em São Paulo, e as de n.º 105 a 118 são de pimenta do reino moída adquirida no Rio de Janeiro.

\*\* Os números em grifo pertencem a amostras cujas características físico-químicas e microscópicas estão em desacordo com o estabelecido pela legislação vigente.

TABELA 2

*Determinações físico-químicas, exame microscópico e cromatografia em camada delgada em amostras, preparadas nos laboratórios, de pimenta do reino moída, semente de mamão moída e mistura de pimenta do reino e semente de mamão moídas*

Amostras	Determinações Físico-químicas				Cromatografia em camada delgada mancha característica de:	Identificação microscópica de elementos histológicos de:
	Substâncias voláteis a 105°C g/100 g (p/p)	Extrato alcoólico na substância seca g/100 g (p/p)	Resíduo mineral fixo g/100 g (d/d)	Resíduo mineral fixo insolúvel em HCl (1+1) g/100 g (p/p)		
Pimenta do reino moída	10,49	7,15	3,3	0,21	pimenta do reino	pimenta do reino
Semente de mamão moída	17,36	14,03	6,18	0,51	semente de mamão	semente de mamão
Mistura de semente de mamão em pimenta do reino (1%)	11,61	7,78	3,06	0,28	pimenta do reino e semente de mamão *	pimenta do reino e semente de mamão
Mistura de semente de mamão em pimenta do reino (5%)	11,48	8,69	3,37	0,40	pimenta do reino e semente de mamão *	pimenta do reino e semente de mamão
Mistura de semente de mamão em pimenta do reino (10%)	11,36	9,77	3,55	0,32	pimenta do reino e semente de mamão *	pimenta do reino e semente de mamão

\* No cromatograma, as manchas características de semente de mamão foram encobertas pelas manchas de pimenta do reino.

TABELA 3

Média e dispersão de valores de extrato alcoólico encontrados em amostras de pimenta do reino preta, moída

	Amostras aprovadas	Amostras condenadas
$\bar{X}$ (média)	9,070	5,404
S (desvio padrão)	0,824	2,055

TABELA 4

Média e dispersão das demais determinações físico-químicas efetuadas em amostras de pimenta do reino preta, moída

Amostras	Substâncias voláteis a 105°C		Resíduo mineral fixo		Resíduo mineral fixo insolúvel em HCl (1+9)	
	g %		g %		g %	
	$\bar{X}$ (média)	S (d. padrão)	$\bar{X}$ (média)	S (d. padrão)	$\bar{X}$ (média)	S (d. padrão)
Aprovadas	11,269	0,810	3,980	1,911	0,679	1,691
Condenadas	11,131	0,762	5,243	2,509	1,801	2,283

### DISCUSSÃO

Observamos que, tanto nas amostras de pimenta do reino preta moída comercializadas em São Paulo, como nas do Rio de Janeiro, não foi detectada a adição de semente de mamão (tabela 1). Se essa fraude houvesse ocorrido, não se teria verificado variação no teor do extrato alcoólico, uma vez que a semente de mamão é também rica em óleo. Também, conforme o resultado da cromatografia em camada delgada, só seria possível a detecção desse tipo de fraude quando o adulterante em questão fosse adicionado em proporções superiores a 20%. Entretanto, ao exame microscópico, a adição de semente de mamão teria sido acusada até mesmo na proporção de 1%, o que foi constatado quando se analisaram as amostras padrões de laboratório (tabela 2). Quando o teor de extrato alcoólico era baixo, o exame microscópico revelava presença de elementos histológicos de milho, trigo, mandioca, pedúnculos de pimenta do reino e areia (tabela 1). Essas fraudes, embora mais grosseiras do que a fraude por adição, ao produto, de semente de mamão moída, são mais fáceis de praticar, e mais vantajosas comercialmente uma vez que, para

utilizar sementes de mamão, estas teriam que ser obtidas em grande quantidade, secas e moídas, para finalmente serem adicionadas à pimenta do reino.

Observamos também uma grande diferença entre os valores de extrato alcoólico das amostras condenadas e aprovadas. A maior dispersão ocorrida nas médias das amostras condenadas caracteriza bem algum tipo de fraude (tabela 3).

Do mesmo modo, o resíduo mineral fixo apresentou um valor maior nas amostras condenadas do que nas aprovadas, sendo a dispersão daquelas também maior. Esta maior dispersão não deveria ocorrer normalmente na pimenta do reino pura (tabela 4). O mesmo se observa no resíduo mineral fixo insolúvel em ácido clorídrico (1+9), conforme tabela 4. As substâncias voláteis, a 105°C, não demonstraram ter sido afetadas pela adulteração das amostras, pois seus valores de média e desvio padrão apresentaram-se muito próximos, com diferenças não significativas (tabela 4). A figura da página seguinte ilustra graficamente a diferença que existe entre as amostras aprovadas e condenadas.

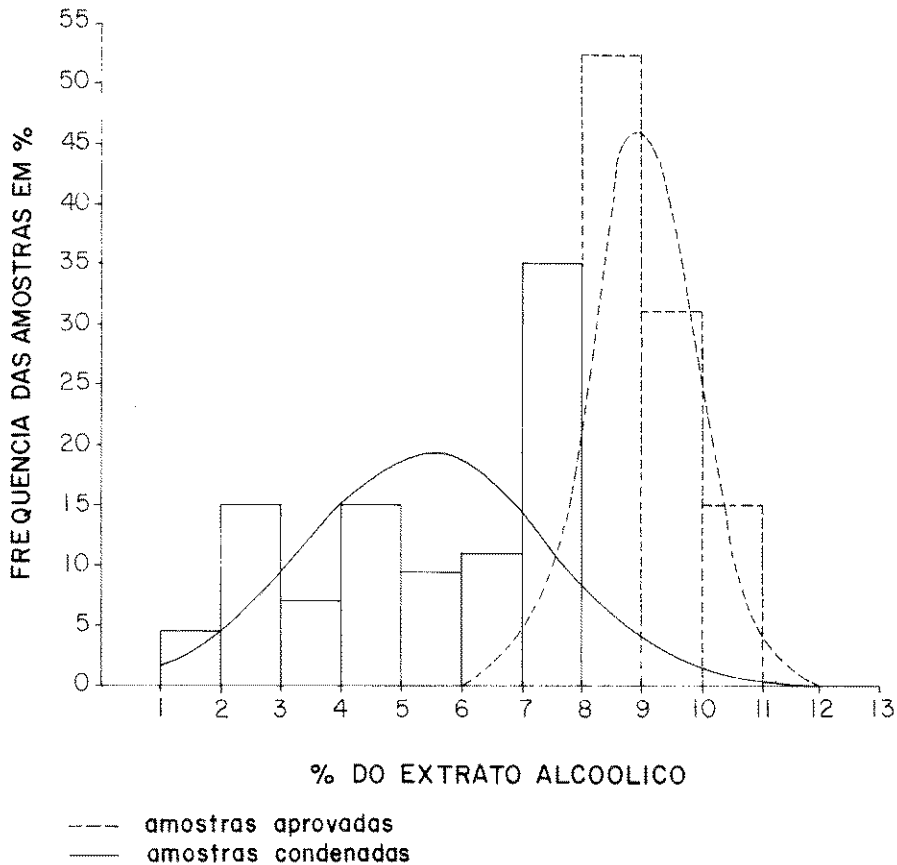


FIGURA — Distribuição das amostras analisadas. Gráfico comparativo.

### CONCLUSÃO

Análises físico-químicas, exame microscópico e cromatografia em camada delgada de amostras de pimenta do reino preta moída comercializadas em São Paulo e no Rio de Janeiro nos levaram às seguintes conclusões:

1. Não foi detectada a adição de sementes de mamão moídas à pimenta.

2. As principais fraudes da pimenta do reino moída são a adição de amidos ou farinha de milho, de trigo e de mandioca, de pedúnculos de pimenta do reino, e de areia, condenando 60% das amostras.

3. O exame microscópico é um método de maior sensibilidade do que a cromatografia em camada delgada na detecção de fraudes desta natureza.

4. Por ser o extrato alcoólico a determinação físico-química mais significativa na análise de pimenta do reino, o teor exigido pela legislação deve ser bem delimitado; de 118 amostras colhidas no comércio, 80 apresentaram teores de extrato alcoólico abaixo do limite exigido pela legislação em vigor; nas amostras de pimenta do reino preparadas no

laboratório, os resultados da determinação do extrato alcoólico se aproximaram da média dos obtidos com as pimentas do reino aprovadas; entretanto, somente 13 das amostras analisadas foram condenadas pelo resíduo mineral fixo, e 29, pelo resíduo mineral fixo insolúvel em HCl (1+9), embora fosse acusada a presença de matéria arenosa em quantidade razoável pelo exame microscópico; esta discrepância se deve ao fato de ser muito alto o teor de resíduo mineral fixo permitido pela legislação atual; o mesmo raciocínio se aplica ao resíduo mineral fixo insolúvel em HCl (1+9).

Sugerimos, portanto, que sejam reduzidos os limites permitidos<sup>1</sup> do resíduo mineral fixo de 7% para 4%, e do resíduo mineral fixo insolúvel em HCl (1+9), de 1,5% para 1%, dificultando assim a adulteração da pimenta do reino moída pela adição de areia.

### Agradecimentos

Agradecemos à Divisão de Alimentação Pública da Coordenadoria da Saúde da Comunidade, pelo fornecimento das amostras, e ao Dr. Carlos Eduardo Barros de Menezes, pela colaboração na parte estatística do presente trabalho.

RIALA6/560

SILVEIRA, N.V.V.; ZAMBONI, C.Q. & TAKAHASHI, M.Y. — Frauds in ground black pepper (*Piper nigrum*). *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 43(1/2):69-79, 1983.

**ABSTRACT:** Examination for possible frauds was made in 118 commercial samples of ground black pepper (*Piper nigrum*) obtained in São Paulo and Rio de Janeiro, Brazil. The aim was to detect added ground papaya (*Carica papaya*) seeds. The samples were subjected to chemical analysis, microscopical examination and thin-layer chromatography. The presence of papaya seeds was not detected. However, microscopic examination showed that 60% of the samples were frauded since adulterants such as corn starch, wheat starch, cassava starch, wheat flour, cornmeal, cassava flour, pepper stems and sand were present. Thin-layer chromatography only detected papaya seeds when these exceeded 20% of the ground pepper, while the microscopical examination detected adulterants at a 1% concentration. It is suggested that the legislation might reduce the upper permitted limit for total ash from 7% to 4% and acid-insoluble ash from 1.5% to 1%. Alcoholic extracts were within the required levels in 67% of the samples examined.

**DESCRIPTORS:** black pepper (*Piper nigrum*), ground, analysis; black pepper (*Piper nigrum*), ground, frauds; papaya (*Carica papaya*), seeds, analysis.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Leis, decretos, etc. — Resolução n.º 12/78 — *Diário Oficial*, Brasília, 24 jul. 1978. Seção 1, pt. 1, p. 11499. Resolução aprovada pela Comissão Nacional de Normas e Padrões para alimentos no mês de março de 1978.
2. BUENO, L.A. — A pimenta do reino e seu extrato alcoólico. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 17:55-8, 1957.
3. LEES, R. — *Manual de analisis de alimentos*. Trad. Andres Marcos Barrado. Zaragoza, Acribia [1969]. p. 201-03.
4. MENEZES JR., J.B.F. — Investigações sobre o exame microscópico de algumas substâncias alimentícias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 9:18-77, 1949.
5. PARRY, J.W. — *Spices: their morphology, histology and chemistry*. New York, Chemical publ., 1962. p. 66-70.
6. PEARSON, D. — *Chemical analysis of foods*. 6th ed. London, J.A. Churchill, 1970. p. 310-13.
7. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. v. 1: *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 2.ª ed. São Paulo, 1976. p. 216 [tecn. 21.1].
8. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas de qualidade para alimentos*. São Paulo, 1967. [OFSANPAN/IALUTZ A 314.23].
9. SÃO PAULO. Leis, decretos, etc. — Decreto n.º 12.486 de 20 de outubro de 1978. *Diário Oficial*, São Paulo, 21 out. 1978. p. 32-33 [NTA 70]. Aprova normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas.
10. WINTON, A.L. & WINTON, K.B. — *The structure and composition of foods*. New York, John Wiley, 1939, v. 2, p. 787-790.
11. *Ibid.* v. 4, p. 319-27.

Recebido para publicação em 11 de maio de 1983.





## UTILIZAÇÃO DA CULTURA DE CÉLULAS DE RIM DE HAMSTER PARA O ISOLAMENTO DO VÍRUS DA CAXUMBA (PAROTIDITE EPIDÊMICA)\*

Sueko TAKIMOTO \*\*  
Mário Monteiro de MESSAS \*\*\*  
Terezinha Maria de PAIVA \*\*  
Clélia Helena Oliveira MARTINEZ\*\*  
Tuneo ISHIMARU\*\*  
Elza Miyashiki MAKITA \*\*

RIALA6/561

TAKIMOTO, S.; MESSAS, M.M.; PAIVA, T.M.; MARTINEZ, C.H.O.; ISHIMARU, T. & MAKITA, E.M. — Utilização da cultura de células de rim de hamster para o isolamento do vírus da caxumba (parotidite epidêmica). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43:(1/2):81-84, 1983.

**RESUMO:** Cultura de células de linhagem contínua de rim de hamster (BHK-21) demonstrou ser um sistema mais sensível e mais rápido para o isolamento do vírus da caxumba, quando comparado com o de ovos embrionados de galinha. Estas células podem ser cultivadas sem dificuldade, em laboratório, ao contrário das células primárias de rim de macaco, igualmente sensíveis mas que são de difícil obtenção. A utilização de células BHK-21 para o isolamento do vírus da caxumba, do material biológico, constitui uma boa alternativa no diagnóstico das infecções causadas por esse vírus.

**DESCRIPTORIOS:** vírus da parotidite epidêmica (caxumba), isolamento; célula BHK-21, cultura, no isolamento do vírus da parotidite epidêmica (caxumba).

### INTRODUÇÃO

O cultivo do vírus da caxumba em cultura de células foi descrito pela primeira vez por WELLER & ENDERS<sup>9</sup>. Mais tarde, HENLE & DEINHARDT<sup>4</sup> descreveram a utilização da cultura de células para o isolamento deste vírus. UTZ *et alii*<sup>8</sup> descreveram métodos para o isolamento do vírus, no diagnóstico de laboratório, de uma variedade de material biológico e estudaram o efeito citopático por esse vírus em cultura de células. Estes autores demonstraram, ainda, que as células primárias de rim de macaco eram muito mais sensíveis que as células HeLa para o isolamento do vírus da caxumba. Já foram utili-

zadas, também, culturas de células primárias de rim de embrião e de âmnio humanos<sup>2</sup>.

Nós descrevemos um sistema eficiente para o isolamento do vírus da caxumba, que torna dispensável a utilização de cultura de células primárias de rim de macaco, opção bastante útil no diagnóstico de laboratório da caxumba.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### *Material biológico*

Foram objeto deste estudo líquido cefaloraquidiano e material de orofaringe de doentes atendidos no Hospital Emílio Ribas, com

\* Realizado na Seção de Vírus Respiratórios, Entéricos e Outros do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, e no Hospital Emílio Ribas, São Paulo, SP.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

\*\*\* Do Hospital Emílio Ribas.

suspeita de infecção por vírus da caxumba. O material foi transportado ao laboratório em gelo e estocado a  $-70^{\circ}\text{C}$ , até o momento de ser inoculado. A primeira amostra de soro desses pacientes, colhida na fase aguda da doença, era estocada a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento em que era colhida a segunda amostra de soro, 15 dias após.

#### Isolamento do vírus

Culturas de células de Hep2 e BHK-21 foram multiplacadas em tubos contendo meio de Eagle mais 10% de soro de vitelo. Antes da inoculação do material biológico, as culturas eram lavadas três vezes com solução salina de Hanks. Como meio de manutenção foi utilizado o de Eagle ao qual se adicionou 2% de soro de galinha, inativado previamente a  $56^{\circ}\text{C}$ , por 30 minutos. A seguir foram utilizados dois tubos de células BHK-21 e dois tubos de células Hep2 e inoculados, em cada tubo, de 0,1 a 0,2 ml do material biológico e incubados em estufa a  $35^{\circ}\text{C}$ , durante 14 dias, trocando-se o meio a cada três dias. As culturas eram examinadas a cada dois dias ao microscópio ótico para verificar a presença de efeito citopático. O material era considerado como negativo quando não era verificado efeito citopático após três passagens sucessivas nessas culturas. No mesmo dia em que era realizada a inoculação do material biológico em cultura de células era feita, também, a inoculação na cavidade amniótica de ovos embrionados, de galinha, de 9 dias. Os ovos

inoculados eram deixados em incubação durante 4 a 5 dias, a  $37^{\circ}\text{C}$ . Após esse período, eram colhidos os líquidos amniótico e alantóico do ovo e verificada a presença de hemaglutinina. Eram feitas três passagens sucessivas de culturas suspeitas antes de serem consideradas como negativas.

#### Identificação do vírus

A identificação do vírus isolado foi feita através das reações de inibição de hemadsorção e/ou da inibição da hemaglutinação, conforme técnica descrita<sup>5</sup>, utilizando soros imune-específicos-padrão para os vírus da caxumba e da parainfluenza, tipos 1 a 4 (gentilmente cedidos pela Dra. M. S. Pereira, Virus Reference Laboratory, Colindale, London).

#### Reações sorológicas

Foi utilizada a reação de inibição da hemaglutinação para a dosagem de anticorpos em amostras pareadas de soros de doentes (fases aguda e convalescente), utilizando o vírus padrão da caxumba, estirpe Enders, conforme técnica já descrita<sup>5</sup>.

## RESULTADOS

O vírus da caxumba foi isolado de 9 entre 16 pacientes que apresentavam quadro clínico, variando, entre meningite, meningite mais parotidite, meningoencefalite e amigdalite (tabela 1).

TABELA 1

Resultado das tentativas de isolamento do vírus da caxumba em células BHK-21 e em ovos embrionados de galinha

Paciente	Idade (anos)	Sintomas associados	Isolamento do vírus			Elevação do título de anticorpos $\geq 4 \times$ (entre a fase aguda e de convalescença)
			Material	BHK-21	OEG	
FRMM	7	M+A	L	—	—	+
NJ	28	M+P	L e O	—	—	+
LOM	2	M+P	L e O	—	—	+
LAR	8	ME	L	+	—	+
ERS	12	M+P	O	—	—	+
MAP	11	M	L e O	—	—	+
JAP	18	M	L	—	—	+
RIS	12	M	L	+	+	—
JO	26	M+P	O	—	—	+
EJAC	8	M	L	+	—	+
CRS	—	M+P	O	+	—	—
RCS	14	M	L	+	—	—
MM	11	M+P	L	+	—	—
LAC	13	M+P	L	+	—	—
MCA	5	M+P	O	+	—	—
CJO	12	M	L	+	+	+

BHK-21 = linhagem contínua de células de rim de hamster; OEG = ovo embrionado de galinha; M+A = meningite mais amigdalite; M+P = meningite mais parotidite; ME = meningoencefalite; M = meningite; L = líquor; O orofaringe.  
+ = positivo.  
— = negativo.

Observou-se, em cultura de células de BHK-21 infectada com vírus da caxumba, efeito citopático característico, com formação de células multinucleadas sinciciais e de inclusões citoplasmáticas eosinofílicas, a partir do quarto dia após a inoculação do material biológico. As células infectadas adsorveram hemácias de galinha e de cobaia. A hemadsorção foi inibida por soro imune específico para o vírus da caxumba.

Foram isolados vírus da caxumba de nove casos em cultura de células de BHK-21 e de dois casos em ovos embrionados de galinha. Em BHK-21, com a exceção de três casos em que foram detectados vírus na segunda passa-

gem, a presença de vírus foi observada na primeira passagem, geralmente no 4.º dia após a inoculação do material biológico. No entanto, a presença do vírus no líquido amniótico do ovo só foi detectada na segunda e na terceira passagem. Isso demonstra que BHK-21 é muito mais sensível que ovo embrionado para o isolamento do vírus da caxumba (tabela 2).

Todas as vezes em que o material clínico era inoculado em BHK-21 e em ovo embrionado, era feita também inoculação em Hep2. No entanto, em nenhuma das vezes esse vírus da caxumba foi isolado em Hep2, o que demonstra a insensibilidade dessa célula para esse vírus.

TABELA 2

*Comparação da sensibilidade entre células BHK-21 e ovo embrionado de galinha para o isolamento do vírus da caxumba*

OEG	Casos positivos		Casos negativos	Total de casos
	1.ª passagem	2.ª passagem		
Casos positivos 2.ª passagem	1	—	—	1
Casos positivos 3.ª passagem	—	1	—	1
Casos negativos	5	2	7	14
Total de casos	6	3	7	16

## DISCUSSÃO

Estudos anteriores já demonstraram que as células primárias de rim de macaco são as mais sensíveis para o isolamento do vírus da caxumba do material biológico e são as mais comumente utilizadas para essa finalidade<sup>4, 8</sup>. No entanto, há uma resistência crescente quanto à utilização dessa cultura de células, em Virologia, por causa da extinção progressiva da espécie. Infelizmente não foi possível fazer uma comparação da sensibilidade entre BHK-21 e células primárias de rim de macaco ao vírus da caxumba, pela impossibilidade de se obter esse tipo de células no laboratório. Mesmo assim, foi possível constatar que BHK-21 é bastante sensível e que apresenta a grande vantagem sobre a cultura primária de rim de macaco de poder ser mantida em qualquer laboratório de Virologia, além de ser pouco onerosa.

A importância de ter sido encontrado um sistema sensível ao isolamento primário do vírus da caxumba atinge maior proporção se

for levado em consideração que, para a realização do diagnóstico sorológico, são necessárias duas amostras de sangue de um mesmo paciente, colhidas em intervalo de 15 dias. A infecção por esse vírus através da tentativa de isolamento em BHK-21 pode ser detectada no quarto dia após a inoculação do material clínico e independe do retorno do paciente para a coleta da segunda amostra de sangue.

Por causa da relação antigênica existente entre vírus da caxumba e outros vírus do grupo dos paramixovirus<sup>1, 7</sup>, e uma vez que o vírus da caxumba pode causar comprometimento neurológico sem que haja necessariamente um comprometimento visível das parótidas<sup>3, 6</sup>, em casos de doença neurológica, os resultados sorológicos devem sempre ser interpretados em conjunto com a informação clínica e com o isolamento do vírus do líquor. A utilização do sistema BHK-21 para o isolamento do vírus da caxumba é uma excelente opção em laboratórios com recursos mais limitados em que não é possível obter células primárias de rim de macaco.

TAKIMOTO, S.; MESSAS, M.M.; PAIVA, T.M.; MARTINEZ, C.H.O.; ISHIMARU, T. & MAKITA, E.M. — Utilização da cultura de células de rim de hamster para o isolamento do vírus da caxumba (parotidite epidêmica). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):81-84, 1983.

RIALA6/561

TAKIMOTO, S.; MESSAS, M.M.; PAIVA, T.M.; MARTINEZ, C.H.O.; ISHIMARU, T. & MAKITA, E.M. — Cultures of hamster kidney cells in the isolation of mumps virus. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):81-84, 1983.

ABSTRACT: Continuous-line cultures of hamster kidney cells (BHK-21) was found to be a more rapid and sensitive procedure for isolation of mumps virus as compared with the embryonated chicken egg procedure. BHK-21 cells can be easily maintained in the virus laboratory, thus contrasting with similarly sensitive primary cells of monkey kidney which are difficult to obtain and cannot be maintained. Use of BHK-21 cell cultures for the isolation of mumps virus seems to be a useful alternative procedure.

DESCRIPTORS: mumps virus, isolation in BHK-21 cell culture; cell, BHK-21 cell culture in the isolation of mumps virus; epidemic parotitis virus; myxovirus parotitidis.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COOK, M.K.; ANDREWS, B.E.; FOX, H.H.; TURNER, H.C.; JAMES, W.D. & CHANOCK, R.M. — Antigenic relationships among the "newer" myxoviruses (para-influenza). *Amer. J. Hyg.*, 69:250-64, 1969.
2. COONEY, M.K.; FOX, J.P. & HALL, C.E. — The Seattle virus watch. VI. Observations of infections with and illness due to parainfluenza, mumps and respiratory syncytial viruses and *Mycoplasma pneumoniae*. *Amer. J. Epidemiol.*, 101:532-51, 1975.
3. HENLE, G.; HENLE, W.; WENDELL, K.K. & ROSENBERG, P. — Isolation of mumps virus from human beings with induced apparent or inapparent infections. *J. exp. Med.*, 88:223-32, 1948.
4. HENLE, G. & DEINHARDT, F. — Propagation and primary isolation of mumps virus in tissue culture. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 89:556-60, 1955.
5. HOOPS, H.E. & PARKMAN, P.D. — Mumps virus. In: LENNETTE, E.H. & SCHMIDT, H.J. — *Diagnostic procedure for viral, rickettsial and chlamydial infections*. 5th ed. Washington, A.P.H.A., c1979, p. 633-53.
6. KILHAM, L. — Mumps meningoencephalitis with and without parotitis. *Amer. J. Dis. Child.*, 78:324-33, 1949.
7. LENNETTE, E.H.; JENSEN, F.W.; GUENTHER, R.W. & MAGOFFIN, R.L. — Serologic responses to para-influenza viruses in patients with mumps virus infection. *J. Lab. clin. Med.*, 61:780-88, 1963.
8. UTZ, J.P.; KASEL, J.A.; CRAMBLETT, H.G.; SZWED, C.F. & PARROTT, R.H. Clinical and laboratory studies of mumps. I. Laboratory diagnosis by tissue-culture technics. *New. Engl. J. Med.*, 257:497-502, 1957.
9. WELLER, T.H. & ENDERS, J.F. — Production of hemmagglutinin by mumps and influenza A viruses in suspended cell tissue culture. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 69:124-8, 1948.

Recebido para publicação em 12 de maio de 1983.

## SÍNDROME DE LARVA MIGRANS VISCERAL EM ADULTO. APRESENTAÇÃO DE UM CASO\*

Carlos Sérgio CHIATTONE\*\*  
Pedro Paulo CHIEFFI\*\*\*  
Roberto A. Pinto PAES\*\*\*

RIALA6/562

CHIATTONE, C.S.; CHIEFFI, P.P. & PAES, R.A.P. — Síndrome de larva migrans visceral em adulto. Apresentação de um caso. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):85-88, 1983.

**RESUMO:** Apresenta-se um caso de síndrome de larva migrans visceral, provavelmente determinado por *Toxocara canis*, em paciente adulta, de sexo feminino, cor branca, procedente do interior de Minas Gerais. Os principais achados clínicos e laboratoriais mostraram hepato e esplenomegalia, ascite, micropolidenoepatia generalizada e lesões pápulo-eritematosas, além de intensa leucocitose com 86% de eosinófilos. O exame anatomopatológico do baço, retirado cirurgicamente, revelou a presença de extensas áreas de necrose e de restos de estrutura larvária. Em biopsia do fígado, realizada a céu aberto, encontraram-se lesões granulomatosas com presença de células gigantes, tipo corpo estranho, além de acentuada eosinofilia.

**DESCRIPTORIOS:** larva migrans visceral, síndrome; *Toxocara canis*; eosinofilia.

### INTRODUÇÃO

A síndrome de larva migrans visceral foi descrita por BEAVER *et alii*<sup>1</sup>, em 1952, em crianças que, ao lado de sintomas pulmonares, febre e hepatomegalia, apresentavam índices elevadíssimos de eosinofilia sanguínea.

Os principais agentes etiológicos desta síndrome são larvas de ascarídeos de animais, especialmente *Toxocara canis* e *T. cati*<sup>16</sup>. Todavia, quase todos os casos conhecidos têm sido associados à presença de *T. canis*, talvez em consequência de maior abundância de ovos desta espécie no solo de locais freqüentados por seres humanos, principalmente crianças<sup>2, 3, 4, 9</sup>. Em nosso meio, como em outros países, é freqüente o encontro de cães albergando *T. canis*, além de ovos viáveis deste ascarídeo no solo<sup>2, 3, 4, 5</sup>.

Habitualmente à infecção humana por larvas de *Toxocara* segue-se cura espontânea ou evolução assintomática<sup>11</sup>; em certas cir-

cunstâncias, podem ocorrer agravos importantes à saúde, como lesões do sistema nervoso central, lesões oculares, quadro de insuficiência respiratória, miocardite, além de hepatomegalia e eosinofilia elevada<sup>14, 15, 16</sup>.

Até há pouco tempo, acreditava-se que basicamente as crianças se infectariam com a ingestão de ovos de *T. canis*. Existem, atualmente, evidências de que adultos, quando expostos a altas cargas de ovos infectantes, podem desenvolver infecção<sup>6, 9, 11</sup>.

No Brasil são muito raros os casos conhecidos de síndrome de larva migrans visceral. Em 1973, PESSÓA<sup>13</sup> chamava atenção para este fato, afirmando não existir motivo para a ausência desta síndrome parasitária em nosso meio. Anos mais tarde, FERRAZ *et alii*<sup>8</sup> publicaram o caso de uma criança de 1 ano e 11 meses de idade que apresentava febre, inapetência e discreta hepatomegalia, além de anemia e elevada eosinofilia, representando 86% dos leucócitos existentes. A

\* Realizado na Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, SP.

\*\* Da Faculdade de Ciências Médicas da SCMSP.

\*\*\* Do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

realização de biopsia hepática permitiu o encontro de restos larvários no centro de focos de necrose, envolvidos por infiltrado linfoplasmocitário e eosinofílico.

Um ano mais tarde, FARIA & RSTOM<sup>7</sup> relataram uma série de 13 casos de crianças com suspeita de larva migrans visceral, em virtude de achados clínicos sugestivos e reação de fixação de complemento positiva. Duas destas crianças, submetidas a biopsia hepática, revelaram quadro histológico caracterizado por intenso infiltrado eosinofílico, sem presença de restos parasitários identificáveis.

Ainda em 1981, KOBERLE & ARTIGAS<sup>10</sup> apresentaram dois casos que julgaram tratar-se de larva migrans visceral por *Toxocara*, em pacientes adultos que padeciam de sintomas respiratórios e, à biopsia pulmonar, revelaram processos granulomatosos, com intensa reação leucocitária e manifesta eosinofilia.

A presente comunicação tem por objetivo relatar um caso de síndrome de larva migrans visceral, provavelmente por *T. canis*, em paciente adulto, comprovado por exame anatomopatológico do fígado e baço.

## DESCRIÇÃO DO CASO

### História da moléstia atual

Paciente de sexo feminino, cor branca, 40 anos, casada, natural e procedente de Presidente Bernardes, Estado de Minas Gerais. Relata início da sintomatologia com infecção no olho direito (*sic*), tendo tomado Benzetacil, sob orientação médica. Após 15 dias, apresentou quadro de alergia (*sic*), caracterizado por formação de pequenos caroços pruriginosos e avermelhados, disseminados pelo tronco e membros. Nos dois meses seguintes, este quadro repetiu-se por várias vezes. Refere melhora com medicamento recomendado por farmacêutico, até começar a apresentar, concomitantemente, aumento do volume abdominal, engrossamento das pernas e vômitos pós-alimentares. Procurou novamente médico, tendo tomado corticosteróides, entre outros medicamentos, obtendo aumento do volume urinário e melhora da sintomatologia por cerca de 30 dias. Dois meses após, o quadro havia novamente se agravado, com aumento do volume abdominal e emagrecimento pronunciado, ocasião em que procurou a Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

### Interrogatório sobre aparelhos

**Aparelho respiratório:** quadro gripal (*sic*) com tosse e expectoração amarelada, acompanhada de febre, cerca de 30 dias antes do acometimento dermatológico.

**Aparelho gastrointestinal:** empachamento pós-prandial; vômitos pós-alimentares; nega icterícia ou eliminação de vermes.

### Exame físico

Os aspectos mais relevantes do exame físico foram o encontro de mucosas descoradas, fígado

e baço palpáveis, além de ascite, edema de membros inferiores e lesões cutâneas pápulo-eritematosas disseminadas, formando em algumas áreas agrupamentos de contornos serpiginosos com diâmetro de 2,0 a 3,0 cm. Notou-se também micropoliadenopatia generalizada.

O fígado apresentava-se a 10 cm do rebordo costal direito, com consistência endurecida, indolor e superfície irregular. O baço era palpado a 10 cm do rebordo costal esquerdo, mostrando consistência dura.

### Exames laboratoriais

**Hemograma:** no momento da internação, a paciente apresentava anemia hipocrômica normocítica; o leucograma mostrava-se bastante alterado, com 71.000 leucócitos, 86% dos quais eram eosinófilos.

**VHS:** 104 mm/1.<sup>a</sup> hora.

**Exame parasitológico de fezes:** 5 exames sucessivos revelaram ovos de *Taenia* sp. e de *Ancylostomidae* e larvas de *Strongyloides stercoralis*. Provas de função hepática: bilirrubinas totais, 1,3; bilirrubina direta, 1,0; bilirrubina indireta, 0,3; TGO e TGP, normais; DHL, 430; colinesterase, 1,04; TP, 74%, 14 seg.

**Imunofluorescência indireta para esquistossomose:** negativa.

**Mielograma:** acentuada eosinofilia, com elementos maduros.

**Eletroforese de proteínas:** PT, 6,2; A, 1,55; alfa 1, 0,19; alfa 2, 0,76; beta, 1,48; gama, 2,24.

**Imunoeletroforese:** IgG, muito elevada; IgM, muito elevada; IgA, elevada.

**Pesquisa de auto-anticorpos,** negativa.

**RX do tórax e esqueleto,** normais.

**Mapeamento hepático:** hepatomegalia, com zonas irregulares hipocaptantes.

**Biopsia de gânglio cervical:** hiperplasia reacional, com eosinofilia.

**Biopsia hepática percutânea:** parênquima com aspecto normal.

**Biopsia da lesão cutânea:** processo inflamatório inespecífico, com eosinofilia.

**Biopsia retal:** negativa para ovos de *S. mansoni*.

**Exame do líquido ascítico:** cor amarelo-citrino; glicose, 102 mg%; mucoproteínas, 3,0; DHL, 220; proteínas totais, 3,0; albumina, 0,8; globulinas, 2,2.

**Citologia:** presença de leucócitos em grande quantidade, com 86% de eosinófilos.

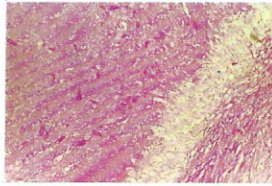
### Evolução

Submetida a esquema diurético, a paciente apresentou regressão dos edemas dos membros inferiores, persistindo o mesmo quadro hematológico. Por não se chegar a diagnóstico conclusivo, foi submetida a laparotomia exploradora para esplenectomia e biopsia hepática dirigida.

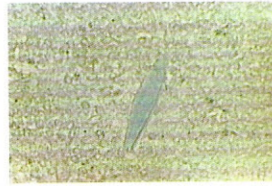
O exame anatomopatológico revelou o seguinte resultado:

**Baço:** media 16 x 12 x 4 cm e pesava 410 gramas. Ao exame histológico, extensas áreas de necrose acidófila, circundadas por proliferação histiocitária em paliçada, granulomatosa (fig. 1). Em meio à massa de necrose, observaram-se restos de estrutura larvária (fig. 2).

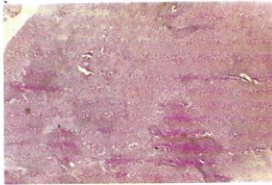
**Fígado:** estrutura alterada por processo inflamatório portal, caracterizado por proliferação conjuntiva fibrosa, infiltrado linfoplasmocitário e granulomas com células gigantes, tipo corpo estranho, além de acentuada eosinofilia. Presença de discreta colestase (figs. 3 e 4).



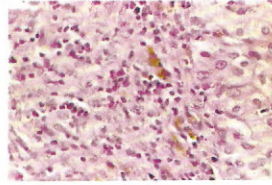
1



2



3



4

FIGURA 1 — Foco necrótico esplênico, circundado por reação histiocitária granulomatosa, com diversos fragmentos larvários. H.E. 190x.

FIGURA 2 — Aproximação do mesmo campo da figura anterior, mostrando resto larvário H.E. 480 x.

FIGURA 3 — Biopsia hepática, onde se podem observar focos inflamatórios alargando espaços-porta. H.E. 190x.

FIGURA 4 — Aproximação ao nível de um dos espaços-porta visto na figura anterior, mostrando colestase e infiltrado linfoplasmocitário com eosinófilos. H.E. 480 x.

### COMENTÁRIOS

Hipereosinofilia pode ser encontrada em quantidade apreciável de doenças, sendo mais freqüentemente associada a processos de etiologia alérgica ou parasitária. Tem sido também relacionada à leucemia eosinofílica, que é uma rara variante da leucemia mielóide crônica.

Com relação à eosinofilia de origem parasitária os principais agentes são helmintos, sendo necessária a ocorrência de invasão tecidual, não bastando a simples localização do parasita na luz intestinal. Triquinose, estrogiloidíase, esquistossomose, filariose e toxocaríase são as helmintoses que podem atingir o ser humano e mais comumente determinar a presença de altos índices de eosinofilia sanguínea e/ou tecidual.

No presente caso os aspectos clínicos, epidemiológicos e anatomopatológicos afastam a possibilidade de se tratar de triquinose ou filariose. A ausência de células granulocíticas eosinofílicas imaturas no mielograma torna pouco provável o diagnóstico de doença mielo-

proliferativa. Os exames laboratoriais e anatomopatológicos não mostraram qualquer evidência de infecção esquistossomótica, nem presença de larvas de *S. stercoralis* nos tecidos. Os achados anatomopatológicos, entretanto, são compatíveis com o diagnóstico de larva migrans visceral por *Toxocara*, conforme mostra a Figura 2.

Os aspectos clínicos e a persistente hipereosinofilia presentes na paciente em questão também são muito sugestivos de síndrome de larva migrans visceral. EHRHARD & KERNBAUM<sup>6</sup> revisando o quadro clínico de 350 casos humanos de infecção por *Toxocara canis*, encontraram hepatomegalia em 74%, sintomas respiratórios em 66%, esplenomegalia em 33%, além de quadro cutâneo, representado por eritemas fugazes com presença de nódulos subcutâneos em 24% dos pacientes. Aspecto semelhante é assinalado por GLICKMAN & SCHANTZ<sup>9</sup>.

É interessante ressaltar que a síndrome de larva migrans visceral em adultos, embora não seja a ocorrência mais comum, foi assinalada em 17% dos casos estudados por EHRHARD & KERNBAUM<sup>6</sup>, tendo sido relatada também por outros autores<sup>9, 10, 11</sup>.

RIALA6/562

CHIATTONE, C.S.; CHIEFFI, P.P. & PAES, R.A.P. — Visceral larva migrans in adult patient. Report of a case. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):85-88, 1983.

ABSTRACT: Visceral larva migrans probably due to *Toxocara canis* larvae was diagnosed in a white, 40-year old peasant woman from Minas Gerais state, Brazil. Enlargment of the liver, spleen, and lymph nodes, ascitis, skin lesions, and high levels of blood eosinophils were the main clinical and laboratory findings. Histologic examination of the surgically-removed spleen showed large foci of necrosis and the presence of parasitic structures which were classified as nematode larvae resembling *Toxocara* larvae. Granulomatous lesions surrounded by giant cells and high numbers of eosinophils were the main findings in a liver biopsy.

DESCRIPTORS: larva migrans, visceral; *Toxocara canis*; eosinophilia.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BEAVER, P.C.; SNYDER, C.H.; CARREIRA, G.M.; DENT, J.H. & LAFFERTY, J.W. — Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans. Report of three cases. *Pediatrics*, 9:7-19, 1952.
2. BORG, O.A. & WOODRUFF, A.W. — Prevalence of infective ova of *Toxocara* species in public places. *Brit. med. J.*, 4: 470-2, 1973.
3. CHIEFFI, P.P. & MÜLLER, E.E. — Prevalência de parasitismo por *Toxocara canis* em cães e presença de ovos de *Toxocara* sp. no solo de localidades públicas da zona urbana do município de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. *Rev. Saúde pública*, 10:367-72, 1976.
4. CHIEFFI, P.P. & MÜLLER, E.E. — Estudo da variação mensal na contaminação do solo por ovos de *Toxocara* sp. (Nematoda, Ascaroidea), na zona urbana do município de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38: 13-6, 1978.
5. CHIEFFI, P.P.; VIOTTI, N.M.A.; MÜLLER, E.E. & MORETTI, I.G. — Estudo sobre a prevalência de enteroparasitas em cães da zona urbana do município de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. *Científica*, Jaboticabal, 4:64-7, 1976.
6. EHRHARD, T. & KERNBAUM, S. — *Toxocara canis* et toxocarose humaine. *Bull. Inst. Pasteur*, 77:225-87, 1979.
7. FARIA, R. & RSTOM, F.M. — Larva migrans visceralis (síndrome de Löefler por *Toxocara canis*). *Pediatr. mod.*, 16:190-6, 1981.
8. FERRAZ, C.N.; KERBAUY, J.; FARHAT, C.K.; CLARO, J.T. & SILVA, M.P. — Eosinofilia relacionada à larva migrans visceral. *Rev. Ass. méd. bras.*, 26:253-4, 1980.
9. GLICKMAN, L.T. & SCHANTZ, P.M. — Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocarosis. *Epidemiol. Reviews*, Baltimore, 3:230-50, 1981.
10. KÖBERLE, F. & ARTIGAS, P.T. — Considerações em torno de dois casos de "larva migrans" visceral. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 6.º, Belo Horizonte, 1981. p. 128. [Resumos]
11. MATSUMARA, K. & ENDO, R. — Seroepidemiological study on toxocaral infection in man by enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Hyg.*, 90:61-5, 1983.
12. NEAFIE, R.C. & CONNOR, D.H. — Visceral larva migrans. In: BINFORD, C.H. & CONNOR, D.H., ed. — *Pathology of tropical and extraordinary diseases*. Washington, Armed Forces Institute of Pathology, 1976. v. 2.
13. PESSÔA, S.B. — Comentários sobre algumas helmintoses humanas pouco conhecidas ou ainda não assinaladas no Brasil. *Rev. Pat. trop.*, 2:159-69, 1973.
14. VARGO, T.A.; SINGER, D.B.; GILLETTE, P.C. & FERNBACH, D.J. — Myocarditis due to visceral larva migrans. *J. Pediatr.*, Rio de J., 90:322-3, 1977.
15. WANG, C.; HUONG, C.Y.; CHAN, P.H.; PRESTON, P. & CHAN, P.Y. — Transverse myelitis associated with larva migrans: finding of larva in cerebrospinal fluid. *Lancet*, 1(8321):423, 1983.
16. WOODUFF, A.W. — Toxocarosis. *Brit. med. J.*, 3:663-9, 1970.

Recebido para publicação em 3 de junho de 1983.



## SALMONELLA TYPHIMURIUM, FERMENTADORA TARDIA DA LACTOSE \*

Gil Vital Álvares PESSÓA \*\*  
Chifumi Takeuchi CALZADA \*\*  
Kinue IRINO \*\*  
Suzel Nogueira NEME \*\*  
Elena KANO \*\*  
Ângela Maria Girardi DIAS \*\*  
Maria Cristina de Cunta BRANDILEONE \*\*

RIALA6/563

PESSÓA, G.V.A.; CALZADA, C.T.; IRINO, K.; NEME, S.N.; KANO, E.; DIAS, A.M.G. & BRANDILEONE, M.C.C. — *Salmonella typhimurium*, fermentadora tardia da lactose. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):89-95, 1983.

RESUMO: Foram estudadas 7.351 cepas de *S. typhimurium* isoladas de diferentes materiais biológicos e do meio ambiente, em relação ao seu comportamento frente ao orto-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosídeo (ONPG). Observou-se a partir de 1975 uma diminuição das cepas rápido-fermentadoras de lactose (fermentação em 24 horas) da *S. typhimurium*, que predominou no período de 1971-74, no material de origem humana, principalmente no de procedência hospitalar. Embora o isolamento das cepas rápido-fermentadoras da lactose tenha decrescido, o seu comportamento em relação ao ONPG permaneceu praticamente constante; assim, neste período, mais de 70% das cepas apresentou uma rápida hidrólise do ONPG, diferindo apenas quanto ao tempo de fermentação da lactose onde quase a totalidade das amostras foi capaz de fermentá-la, entre 3 e 7 dias. As cepas de *S. typhimurium* 05+ caracterizaram-se por ser sempre negativas em relação à fermentação da lactose (15 dias, a 37°C) e ao teste de ONPG (24 horas, a 37°C). Todas as cepas ONPG positivas apresentaram perfis de resistência semelhantes, tendo a maioria 8 marcas.

DESCRITORES: *Salmonella typhimurium*; lactose, fermentação; ortho-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosídeo, hidrólise.

### INTRODUÇÃO

A ocorrência de *Salmonella typhimurium* rápida fermentadora da lactose foi descrita em São Paulo por PESSÓA <sup>4</sup>, em 1973, quando identificou, em maio de 1971, a prevalência da variante rápida fermentadora da lactose.

O comportamento atípico desta variante nos meios clássicos de isolamento e de diagnóstico sugeriu uma modificação nos métodos convencionais de diagnóstico e identificação das enterobactérias.

Segundo PESSÓA *et alii* <sup>5</sup>, esta variante predominou até 1974, correspondendo neste

período a aproximadamente 60% das cepas de *S. typhimurium* isoladas em coprocultura na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz. A partir desta data, sua frequência diminuiu de maneira significativa, representando somente 12% e 6% do total de *S. typhimurium* isolada nos anos de 1975 e 1976, respectivamente. De 1977 em diante, o seu achado tornou-se raro, voltando à situação anterior a 1971, quando não era encontrada a variante rápida fermentadora da lactose de *S. typhimurium*.

Nas cepas de *S. typhimurium* rápidas fermentadoras da lactose foi demonstrado que a capacidade de fermentar este carboidrato es-

\* Realizado na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

tava ligado à presença de um plasmídeo não-autotransferível e sem nenhuma relação com a resistência aos agentes antimicrobianos apresentada pelas mesmas, cujos plasmídios são facilmente transferíveis de uma cepa a outra<sup>3</sup>.

Para melhor estudar o que ocorre com as cepas de *S. typhimurium* incapazes de fermentar a lactose em 18-24 horas, propusemo-nos a avaliar sua capacidade enzimática de degradação deste carboidrato, através do teste da hidrólise do orto-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosídeo (ONPG), uma vez que bactérias potencialmente capazes de fermentar a lactose sempre apresentam o teste do ONPG positivo.

## MATERIAL E MÉTODOS

No período de janeiro de 1973 a dezembro de 1982, foram estudadas, na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, 7.351 cepas de *S. typhimurium*.

A origem dessas cepas foi a seguinte:

coprocultura	4.984
hemocultura	751
cultura de LCR	381
urocultura	66
cultura de secreções	63
origens diversas (embutidos, aves, frutos do mar, meio ambiente)	740
origem desconhecida	366

O estudo da hidrólise do ONPG foi feito de acordo com a técnica descrita por LE MINOR & BEN HAMIDA<sup>2</sup>, utilizando-se uma solução tamponada 0,75 M de orto-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosídeo. A incubação foi feita em banho-maria a 37°C e as leituras, efetuadas após 5, 15, 30, 60 minutos e após 24 horas.

Para a verificação da utilização da lactose, foi feita a semeadura em água peptonada contendo 1% de lactose, tendo azul de bromotimol como indicador de pH. O tempo de observação foi de 15 dias, em estufa a 37°C.

Os perfis de resistência das cepas foram determinados através dos antibiogramas realizados de acordo com a técnica de BAUER *et alii*<sup>1</sup>. Para a realização dos antibiogramas foram utilizados discos impregnados com os seguintes agentes antimicrobianos; ampicilina, cefaloridina, estreptomina, canamicina, clo-ranfenicol, tetracilina, gentamicina, colistina e ácido nalidixico, de procedências diversas.

## RESULTADOS

Os resultados da distribuição total e percentual das cepas de *S. typhimurium* ONPG positivas e negativas encontram-se nas tabelas 1 e 2 nas páginas seguintes.

A grande maioria das cepas que hidrolizou o ONPG, fermentou a lactose entre o 3.º e 5.º dias de incubação, portanto lento-fermentadora deste carboidrato.

À semelhança das cepas rápido fermentadoras da lactose, também as amostras ONPG positivas de *S. typhimurium* apresentaram um grande número de marcas de resistência aos antimicrobianos.

## DISCUSSÃO

Para a análise da problemática da *S. typhimurium* é necessário lembrar que até 1966 este sorotipo, segundo TAUNAY<sup>6</sup>, correspondia apenas a 11,12% de todos os sorotipos isolados no Laboratório de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz. Foi a partir de 1968 que *S. typhimurium* passou a ser o sorotipo de *Salmonella* prevalente em nosso meio<sup>7</sup>, quando se tornou predominante de forma absoluta. Nessa ocasião<sup>4</sup>, passamos também a identificar a variante rápido-fermentadora da lactose, que foge à regra, no gênero *Salmonella*, que é a de não utilizar este carboidrato.

Pela análise da tabela 1, observamos que, a partir de 1975, mais de 60% das cepas de *S. typhimurium*, que se comportaram como não-fermentadoras da lactose nos meios de isolamento, hidrolizou o ONPG. Se analisarmos o total de amostras estudadas, o percentual de cepas ONPG positivas corresponde a 76,25%. Na tabela 2 vemos que 80% das cepas de origem humana hidrolizou este substrato.

A análise comparativa das tabelas 1 e 2 com a tabela 3 e figura (estas duas últimas reproduzidas de trabalho anterior de PESSOA *et alii*<sup>5</sup>), permite concluir que as cepas denominadas lactose negativas devem ser constituídas por amostras ONPG positivas e negativas.

As cepas de *Salmonella typhimurium* com a constituição antigênica 4,12:i:1,2, que não hidrolizaram o ONPG e foram lactose negativa, apresentaram multirresistência às drogas antimicrobianas. As cepas de mesma constituição antigênica, mas ONPG positivas e fermentadoras tardias da lactose, também apresentaram multirresistência aos antimicrobianos.

É digno de nota que todas as cepas de *Salmonella typhimurium* caracterizadas como 4,5,12:i:1,2, se comportaram sempre como não-fermentadoras da lactose, não hidrolizaram o ONPG e foram sensíveis à grande maioria dos agentes antimicrobianos. Aproximadamente 50% dessas cepas é de origem não-humana.

Se compararmos as cepas rápido-fermentadoras da lactose, predominantes durante o período de 1971 a 1974, com as cepas ONPG positivas, fermentadoras tardias da lactose (fermentação entre 3.º e 5.º dias de incubação), vemos que a única diferença fenotípica está na diminuição da velocidade da fermentação da lactose.

Considerando que uma modificação fenotípica é um reflexo de alteração genotípica, estudos genéticos são necessários para concluirmos que se trata ou não da mesma variante de *S. typhimurium*<sup>8</sup>, que se instalou no nosso meio a partir de 1971.

TABELA 1

Distribuição anual e percentual de cepas de *Salmonella typhimurium*, ONPG positiva e negativa, isoladas de material humano e não humano, no decênio 1973-1982

Distribuição anual Cepas ONPG *	1973	1974	1975	1976	1977	1978	1979	1980	1981	1982	Total
Positivas	101 (50,50%)	128 (40,89%)	289 (61,97%)	445 (83,18%)	804 (83,84%)	725 (77,54%)	688 (80,56%)	751 (75,10%)	833 (79,87%)	841 (76,94%)	5605 (76,25%)
Negativas	99 (49,50%)	185 (59,11%)	130 (31,03%)	90 (16,82%)	155 (16,16%)	210 (22,46%)	166 (19,44%)	249 (24,90%)	210 (20,13%)	252 (23,06%)	1746 (23,75%)
Total de amostras	200	313	419	535	959	935	854	1000	1043	1093	7351

\* ONPG — orto-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosídeo.

TABELA 2

Percentual de cepas de *Salmonella typhimurium*, ONPG positiva e negativa, isoladas de material humano e não humano, no decênio 1973-1982

Origem das amostras / Percentual ONPG	Fezes	Sangue	LCR	Urina	Secreções	Diversa	Desconhecida
Positivo	79,25	83,62	80,31	81,82	82,54	50,00	66,94
Negativo	20,75	16,38	19,69	18,18	17,46	50,00	33,06

PESSOA, G.V.A.; CALZADA, C.T.; IRINO, K.; NEME, S.N.; KANO, E.; DIAS, A.M.G. & BRAN-  
 DHEONE, M.C.C. — *Salmonella typhimurium*, fermentadora tardia da lactose. *Rev. Ins. Adolfo*  
*Lutz*, 43 (1/2): 89-95, 1983.

TABELA 3

*Distribuição anual de Salmonella typhimurium lactose positiva e lactose negativa isolada de coprocultura, no septênio 1970-76, na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo*

<i>Salmonella typhimurium</i>	Distribuição anual													
	1970		1971		1972		1973		1974		1975		1976	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
Lactose negativa	261	100	148	46,25	191	47,28	216	33,33	174	39,82	768	87,97	974	94,02
Biotipo lactose positiva	—	0	172	53,75	213	52,72	432	66,67	263	60,18	105	12,03	62	5,98
Total	261	100	320	100	404	100	648	100	437	100	873	100	1036	100

Fonte: PESSÔA *et al*5.

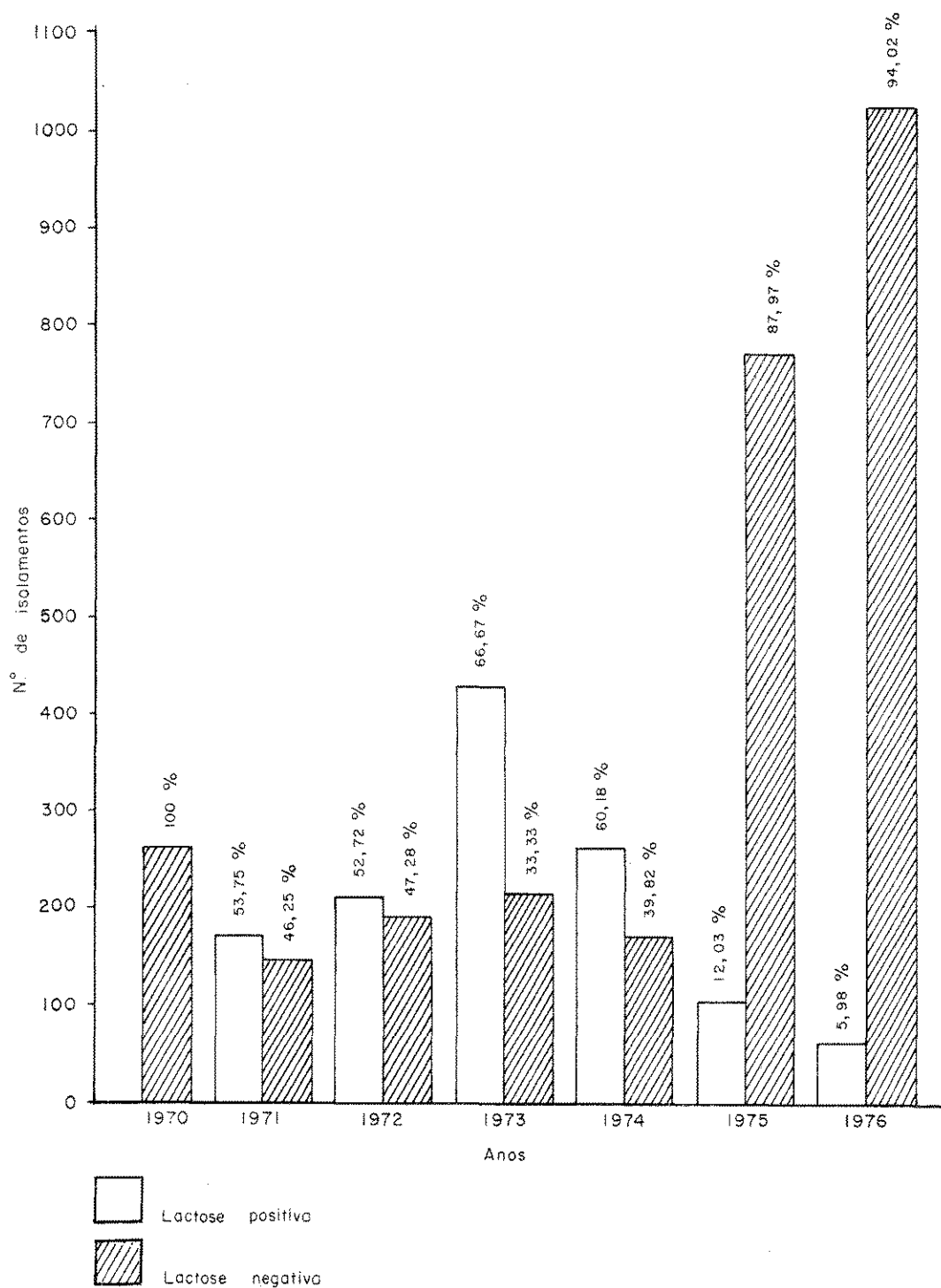


FIGURA — Relação entre o número de amostras de *Salmonella typhimurium* lactose positiva e lactose negativa isolada de coprocultura.  
 Fonte: PESSÓA *et alii* 6.

RIALAG/563

PESSÓA, G.V.A.; CALZADA, C.T.; IRINO, K.; NEME, S.N.; KANO, E.; DIAS, A.M.G. & BRANDILEONE, M.C.C. — Study of late fermentation of lactose by strains of *Salmonella typhimurium*. *Rev. Ins. Adolfo Lutz*, 43(1/2):83-95, 1983.

**ABSTRACT:** The behavior regarding fermentation of lactose and hydrolysis of ortho-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside (ONPG) was studied in 7,351 strains of *Salmonella typhimurium*. These strains were isolated from various biological and environmental materials obtained in the city of São Paulo, Brazil, from 1971 to 1982. During the period 1971-1974, fast (24 hours) fermentation of lactose was observed in a predominant number of strains isolated from human sources, particularly in hospitals. After 1975, there was a decrease in the frequency of strains rapidly fermenting lactose. In spite of this decrease, the behavior regarding hydrolysis of ONPG remained essentially constant. Also after 1975, more than 70% of the strains isolated showed a rapid hydrolysis of ONPG since almost all strains fermented lactose in 3 to 7 days. Strains of *S. typhimurium* 05+ did not ferment lactose (15 days at 37°C) nor hydrolysed ONPG (24 hours at 37°C). All ONPG positive strains showed similar resistance profiles, the majority having 8 marks.

**DESCRIPTORS:** *Salmonella typhimurium*; lactose, fermentation; ortho-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside, hydrolysis.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C. & TURCK, M. — Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Amer. J. clin. Path.*, 45:493-6, 1966.
2. LE MINOR, L. & BEN HAMIDA, F. — Avantages de la recherche de la  $\beta$ -galactosidase sur celle de la fermentation du lactose en milieu complexe dans le diagnostic bactériologique, en particulier des *Enterobacteriaceae*. *Ann. Inst. Pasteur*, Paris, 102:267-77, 1962.
3. LE MINOR, L.; COYNAULT, C. & PESSOA, G. — Déterminisme plasmidique du caractère atypique "lactose positif" de souches de *S. typhimurium* et de *S. oranienburg* isolées au Brésil lors d'épidémies de 1971 a 1973. *Ann. Microbiol.*, Paris, Seccion A. 125:261-85, 1974.
4. PESSÓA, G.V.A. — Sobre a ocorrência de uma variante de *Salmonella typhimurium* fermentadora da lactose. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 33:13-28, 1973.
5. PESSÓA, G.V.A.; IRINO, K.; MELLES, C.E.A.; CALZADA, C.T.; RASKIN, M. & KANO, E. — Ocorrência de bactérias enteropatógenicas em São Paulo no septênio 1970-76. II — O surto epidêmico de *Salmonella typhimurium* em São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38:107-27, 1978.
6. 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.
7. TAUNAY, A.E.; NOVAES, J.R.C. & PESSÓA, G.V.A. — Infecções por enterobactérias no município de São Paulo. Provável disseminação por via aérea. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 31:113-6, 1971.
8. TOLEDO, M.R.F.; REIS, M.H.L.; MURAHOVSKI, J.; CURY, R.; RAMOS, S.R.T.S.; FIORE, E.S.; SCHUSSEL, E.Y. & TRABULSI, L.R. — Ocorrência de uma variante de *Salmonella typhimurium* que fermenta a lactose tardiamente. *Rev. Microbiol.*, 10:103-106, 1979.

Recebido para publicação em 17 de junho de 1983.





## OCORRÊNCIA DE INFECÇÕES ENTÉRICAS MÚLTIPLAS POR ENTEROBACTÉRIAS PATOGÊNICAS, NO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO, NO SEXTÊNIO 1977-1982 \*

Gil Vital Alvares PESSÔA \*\*  
Kinue IRINO \*\*  
Chifumi Takeuchi CALZADA \*\*  
Elena KANO \*\*  
Ângela Maria Girardi DIAS \*\*  
Suzel Nogueira NEME \*\*  
Vera SIMONSEN \*\*  
Tânia Mara Ibelli VAZ \*\*

RIALA6/564

PESSÔA, G.V.A.; IRINO, K.; CALZADA, C.T.; KANO, E.; DIAS, A.M.G.; NEME, S.N.; SIMONSEN, V. & VAZ, T.M.I. — Ocorrência de infecções entéricas múltiplas por enterobactérias patogênicas, no município de São Paulo, no sextênio 1977-1982. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):97-103, 1983.

RESUMO: É relatada a freqüência de infecções múltiplas por membros da família *Enterobacteriaceae*, no sextênio 1977-1982. Neste período, foram encontrados 526 casos de infecções duplas e 20 de infecções triplas, correspondendo a 10,32% do total dos exames positivos, sendo que predominou o modelo *Salmonella typhimurium* mais *Escherichia coli* 0111:K58, e o grupo etário mais atingido foi o de zero a seis meses de idade, onde está 64% dos casos.

DESCRITORES: infecções por enterobactérias, ocorrência no município de São Paulo, SP, Brasil.

### INTRODUÇÃO

A ocorrência de duas ou mais enterobactérias patogênicas nos exames bacteriológicos de fezes de crianças com diarréia infecciosa já foi assinalada por alguns autores<sup>1, 5, 10</sup>, sem que fosse mencionado o significado dos diferentes agentes patogênicos encontrados no material proveniente do mesmo paciente.

HORMAECHE *et alii*<sup>4</sup>, em 1943, estudando as causas da diarréia infantil de verão, em Montevideo, Uruguai, durante um período de seis anos, encontraram, em 9.911 exames, 34 casos de infecções causadas por *Shigella* associada a *Salmonella*, e 32 casos onde predominavam mais de dois sorotipos diferentes de *Salmonella*. Referem que, embora a patogenidade, no homem, de *Shigella* e *Salmonella* esteja bem estabelecida, nos casos de infecções, onde são encontradas mais de duas enterobactérias patogênicas, é impossível determi-

nar o papel que cada bactéria desempenha no quadro infeccioso. Acreditam os referidos autores que a ocorrência de infecções mistas seja muito mais freqüente do que geralmente é detectada, e que os seus resultados são justificados pelo fato de que, no seu laboratório, sempre são isoladas e analisadas mais de 40 colônias provenientes do material de cada paciente.

No nosso meio, as enterobactérias patogênicas mais freqüentemente isoladas de crianças com distúrbios intestinais são *Escherichia coli* enteropatogênica, *Salmonella* e *Shigella*, havendo um predomínio de determinados sorogrupos ou sorotipos entre estes três gêneros. Para verificarmos a freqüência e os tipos de associações de enterobactérias patogênicas responsáveis pelo quadro diarréico, analisamos 5.288 coproculturas positivas dentre os 17.913 exames realizados no Instituto Adolfo Lutz, no sextênio 1977-1982.

\* Realizado na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

## MATERIAL E MÉTODOS

No período de 1977 a 1982 foram examinadas na Seção de Bacteriologia do I.A.L. amostras de fezes procedentes em sua grande maioria do município de São Paulo, proveniente de hospitais pediátricos, hospital de moléstias infecciosas e de centros de Saúde.

As fezes, transportadas em solução salina glicerizada preparada segundo Sacks (EDWARDS & EWING<sup>1</sup>), foram semeadas em placas de Petri contendo ágar Mac Conkey, em placas com ágar *Salmonella-Shigella* e no caldo selenito-novobiocina (preparado segundo PESSÓA & PEIXOTO<sup>2</sup>), para o enriquecimento de *Salmonella*.

O material proveniente do caldo selenito-novobiocina, após permanência em estufa a 37°C, por 18-24 horas, foi semeado em placas contendo ágar Mac Conkey e em placas com ágar verde brilhante. Todas as placas incubadas em estufa a 37°C, durante 18-24 horas, foram examinadas para a seleção de colônias suspeitas. Do material proveniente de cada paciente foram isoladas, dos casos suspeitos, aproximadamente 40 colônias, em meio de diagnóstico presuntivo IAL<sup>3</sup>. A identificação presuntiva das enterobactérias semeadas em meio IAL foi feita após incubação, de 18 a 24 horas, em estufa a 37°C.

Após a confirmação bioquímica do gênero, as cepas de *E. coli*, *Shigella* e *Salmonella* foram submetidas à identificação sorológica, utilizando-se inicialmente soros polivalentes e, a seguir, soros monovalentes para a determinação dos sorogrupos e dos sorotipos.

As cepas suspeitas de serem *E. coli* enteroinvasivas foram submetidas ao teste de SERENY<sup>4</sup>, e o teste de DEAN<sup>2</sup> foi utilizado para determinar a capacidade de produzir a toxina termoestável pelas cepas de *E. coli* enterotoxigênicas.

## RESULTADOS

A distribuição anual e o percentual de casos de infecções múltiplas detectados através de exames bacteriológicos de fezes recebidas no sexênio 1977-1982 estão discriminados na tabela 1.

Na tabela 2 encontra-se a distribuição, por faixa etária, dos casos de infecções entéricas mistas.

As enterobactérias encontradas nas infecções duplas e o número de casos em que foram isoladas, encontram-se na tabela 3.

Na tabela 4 estão discriminados os tipos de associações triplas por enterobactérias.

TABELA 1

Distribuição anual e percentual de infecções entéricas múltiplas no município de São Paulo, no sexênio 1977-1982

Ano	Exames realizados n.º	Exames positivos n.º	Infecções múltiplas	
			n.º	%
1977	5.246	1.521	178	11,70
1978	3.507	874	87	9,95
1979	2.341	710	91	12,81
1980	2.794	875	101	11,54
1981	2.681	625	61	9,76
1982	1.344	683	28	4,09
Total	17.913	5.288	546	---

TABELA 2

Distribuição das infecções entéricas mistas por faixa etária

Faixa etária	N.º de casos	%
0 — 6 m	349	63,92
6 — 12 m	197	19,60
1 — 5 a	53	9,70
5 — 10 a	8	1,47
> 10 a	10	1,83
idade desconhecida	19	3,48
Total	546	---

m = meses.

a = anos.

PESSÓA, G.V.A.; IRINO, K.; CALZADA, C.T.; KANO, E.; DIAS, A.M.G.; NEME, S.N.; SIMONSEN, V. & VAZ, T.M.I. — Ocorrência de infecções entéricas múltiplas por enterobactérias patogênicas, no município de São Paulo, no sextênio 1977-1982. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43:97-103, 1983.

TABELA 3

*Enterobactérias encontradas nas infecções duplas e número de casos em que foram isoladas*

(Continua)

Enterobactérias		N.º casos		
<i>S. dysenteriae</i>	2	+	<i>S. sonnei</i>	1
<i>S. flexneri</i>	2	+	<i>S. flexneri</i> 4	1
<i>S. flexneri</i>	2	+	<i>S. sonnei</i>	1
<i>S. flexneri</i>	4	+	<i>S. sonnei</i>	1
<i>E. coli</i> 0111: K 58		+	<i>E. coli</i> 0119: K 69	4
<i>E. coli</i> 028ac		+	<i>E. coli</i> 086 : K 61	1
<i>E. coli</i> 0136: K 78		+	<i>E. coli</i> 0127: K 63	1
<i>E. coli</i> 055 : K 59		+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	1
<i>E. coli</i> 055 : K 59		+	<i>E. coli</i> 086 : K 61	1
<i>E. coli</i> 0119: K 69		+	<i>E. coli</i> 0125: K 70	1
<i>E. coli</i> 0111: K 58		+	<i>E. coli</i> 086 : K 61	1
<i>E. coli</i> 0119: K 69		+	<i>E. coli</i> 055 : K 59	1
<i>E. coli</i> 0143		+	<i>E. coli</i> 0136: K 78	1
<i>E. coli</i> 0127: K 63		+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	1
<i>E. coli</i> 026 : K 60		+	<i>E. coli</i> ST+	1
<i>S. typhimurium</i> 0:5—		+	<i>S. agona</i>	24
<i>S. typhimurium</i> 0:5—		+	<i>S. typhimurium</i> 0:5— LDC—	11
<i>S. typhimurium</i> 0:5—		+	<i>S. typhimurium</i> 0:5+	2
<i>S. typhimurium</i> 0:5— LDC—		+	<i>S. agona</i>	1
<i>S. agona</i>		+	<i>S. agona</i> LDC—	1
<i>S. agona</i>		+	<i>S. bredeney</i>	1
<i>S. anatum</i>		+	<i>S. infantis</i> 014+	1
<i>S. anatum</i>		+	<i>S. bovis morbilificans</i>	1
<i>S. typhi</i>		+	<i>S. inganda</i>	1
<i>S. dysenteriae</i> 2		+	<i>E. coli</i> 026 : K 60	1
<i>S. dysenteriae</i> 2		+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	1
<i>S. dysenteriae</i> 2		+	<i>E. coli</i> 0119: K 69	1
<i>S. dysenteriae</i> 2		+	<i>E. coli</i> 0128: K 67 ST+	1
<i>S. flexneri</i> 1		+	<i>E. coli</i> 055 : K 59	1
<i>S. flexneri</i> 1		+	<i>E. coli</i> 086 : K 61	1
<i>S. flexneri</i> 1		+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	1
<i>S. flexneri</i> 2		+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	6
<i>S. flexneri</i> 2		+	<i>E. coli</i> 0119: K 69	5
<i>S. flexneri</i> 2		+	<i>E. coli</i> 086 : K 61	3
<i>S. flexneri</i> 2		+	<i>E. coli</i> 026 : K 60	2
<i>S. flexneri</i> 2		+	<i>E. coli</i> 0126: K 71	1
<i>S. flexneri</i> 3		+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	5
<i>S. flexneri</i> 3		+	<i>E. coli</i> 086 : K 61	3
<i>S. flexneri</i> 3		+	<i>E. coli</i> 0119: K 69	1
<i>S. flexneri</i> 3		+	<i>E. coli</i> 055 : K 59	1
<i>S. flexneri</i> 3		+	<i>E. coli</i> 026 : K 60	1
<i>S. flexneri</i> 3		+	<i>E. coli</i> 0124: K 72	1
<i>S. flexneri</i> 4		+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	2
<i>S. flexneri</i> 4		+	<i>E. coli</i> 086 : K 61	1
<i>S. flexneri</i> 4		+	<i>E. coli</i> 026 : K 60	1
<i>S. flexneri</i> 6		+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	2
<i>S. sonnei</i>		+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	3
<i>S. sonnei</i>		+	<i>E. coli</i> 086 : K 61	3
<i>S. sonnei</i>		+	<i>E. coli</i> 0119: K 69	1
<i>S. sonnei</i>		+	<i>E. coli</i> 055 : K 59	1
<i>S. typhimurium</i> 0:5—		+	<i>S. flexneri</i> 2	9
<i>S. typhimurium</i> 0:5—		+	<i>S. sonnei</i>	6
<i>S. typhimurium</i> 0:5—		+	<i>S. flexneri</i> 3	3
<i>S. typhimurium</i> 0:5—		+	<i>S. flexneri</i> 6	2
<i>S. typhimurium</i> 0:5—		+	<i>S. flexneri</i> 1	2
<i>S. typhimurium</i> 0:5—		+	<i>S. flexneri</i> 4	1
<i>S. typhimurium</i> 0:5— LDC—		+	<i>S. flexneri</i> 2	1
<i>S. typhimurium</i> 0:5— LDC—		+	<i>S. flexneri</i> 4	1

PESSOA, G.V.A.; IRINO, K.; CALZADA, C.T.; KANO, E.; DIAS, A.M.G.; NEME, S.N.; SIMON-SEN, V. & VAZ, T.M.I. — Ocorrência de infecções entéricas múltiplas por enterobactérias patogênicas, no município de São Paulo, no sextênio 1977-1982. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43:97-103, 1983.

		(conclusão)	
Enterobactérias		N.º casos	
<i>S. agona</i>	+	<i>S. sonnei</i>	4
<i>S. agona</i>	+	<i>S. flexneri</i> 4	2
<i>S. agona</i>	+	<i>S. flexneri</i> 3	1
<i>S. agona</i>	+	<i>S. flexneri</i> 2	1
<i>S. dublin</i>	+	<i>S. flexneri</i> 2	1
<i>S. anatum</i>	+	<i>S. flexneri</i> 5	1
<i>S. infantis</i>	+	<i>S. flexneri</i> 4	1
<i>Salmonella</i> I 4,12: - : -	+	<i>S. flexneri</i> 3	1
<i>Salmonella</i> I 6,7 : - : -	+	<i>S. flexneri</i> 2	1
<i>S. typhimurium</i> 0:5-	+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	144
<i>S. typhimurium</i> 0:5-	+	<i>E. coli</i> 0119: K 69	44
<i>S. typhimurium</i> 0:5-	+	<i>E. coli</i> 086: K 61	26
<i>S. typhimurium</i> 0:5-	+	<i>E. coli</i> 055: K 59	22
<i>S. typhimurium</i> 0:5-	+	<i>E. coli</i> 0125: K 70	12
<i>S. typhimurium</i> 0:5-	+	<i>E. coli</i> 0128: K 67 ST+	5
<i>S. typhimurium</i> 0:5-	+	<i>E. coli</i> 0126: K 71	3
<i>S. typhimurium</i> 0:5-	+	<i>E. coli</i> 086: K 61	2
<i>S. typhimurium</i> 0:5-	+	<i>E. coli</i> ST+	1
<i>S. typhimurium</i> 0:5-	+	<i>E. coli</i> 026: K 60	1
<i>S. typhimurium</i> 0:5- LDC-	+	<i>E. coli</i> 0125: K 70	1
<i>S. typhimurium</i> 0:5- LDC-	+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	2
<i>S. typhimurium</i> 0:5- LDC-	+	<i>E. coli</i> 0119: K 69	1
<i>S. typhimurium</i> 0:5- LDC-	+	<i>E. coli</i> 086: K 61	1
<i>S. typhimurium</i> 0:5+	+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	1
<i>S. typhimurium</i> 0:5+	+	<i>E. coli</i> ST+	1
<i>S. agona</i>	+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	44
<i>S. agona</i>	+	<i>E. coli</i> 0119: K 59	21
<i>S. agona</i>	+	<i>E. coli</i> 086: K 61	12
<i>S. agona</i>	+	<i>E. coli</i> 055: K 59	3
<i>S. agona</i>	+	<i>E. coli</i> 026: K 60	2
<i>S. agona</i>	+	<i>E. coli</i> 0126: K 71	2
<i>S. agona</i>	+	<i>E. coli</i> 0125: K 70	1
<i>S. agona</i>	+	<i>E. coli</i> 0128: K 67 ST+	1
<i>S. agona</i>	+	<i>E. coli</i> 029	1
<i>S. agona</i>	+	<i>E. coli</i> ST+	1
<i>S. derby</i>	+	<i>E. coli</i> 055: K 59	2
<i>Salmonella</i> I 4,12 : - : -	+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	1
<i>S. minnesota</i>	+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	1
<i>S. minnesota</i>	+	<i>E. coli</i> 0126: K 71	1
<i>S. typhi</i>	+	<i>E. coli</i> 0152	1
<i>S. panama</i>	+	<i>E. coli</i> 055: K 59	1
<i>S. panama</i>	+	<i>E. coli</i> 0127: K 63	1
<i>S. london</i>	+	<i>E. coli</i> 0119: K 69	1
<i>S. anatum</i>	+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	1
<i>S. anatum</i>	+	<i>E. coli</i> 0119: K 69	1
<i>S. anatum</i>	+	<i>E. coli</i> 086 : K 61	1
<i>S. infantis</i>	+	<i>E. coli</i> 0128: K 67 ST+	1
<i>S. infantis</i>	+	<i>E. coli</i> 055: K 59	1
<i>S. bredeney</i>	+	<i>E. coli</i> 0127: K 63	1
<i>S. senftenberg</i>	+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	1
<i>S. newport</i>	+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	1
<i>S. newport</i>	+	<i>E. coli</i> 055: K 59	1
<i>S. oranienburg</i>	+	<i>E. coli</i> 0124: K 72	1
<i>Salmonella</i> I 4,12: - : -	+	<i>E. coli</i> 0125: K 70	1
<i>Salmonella</i> sp. "R"	+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	1
<i>Salmonella</i> I 4,12: - : -	+	<i>E. coli</i> 0111: K 58	1
<b>Total</b>			<b>562</b>

+ Associação de enterobactérias.  
LDC - Lisina descarboxilase negativa.  
ST + Produtora de toxina termoestável.  
"R" Cepa rugosa.

TABELA 4

Tipos de associação de infecção tripla por enterobactérias no período de 1977 a 1982

Enterobactérias				Ano	Mês	Idade do paciente	
<i>S. typhimurium</i> 0:5—	+	<i>E. coli</i> 0111:K58	+	<i>E. coli</i> 055:K59	1977	03	2 m
<i>S. typhimurium</i> 0:5—	+	<i>E. coli</i> 0111:K58	+	<i>E. coli</i> 055:K59	1977	04	4 m
<i>S. typhimurium</i> 0:5—	+	<i>E. coli</i> 055:K59	+	<i>Shigella flexneri</i> 3	1977	04	3 m
<i>S. typhimurium</i> 0:5—	+	<i>E. coli</i> 0119:K69	+	<i>E. coli</i> 086:K61	1977	07	1 m
<i>S. typhimurium</i> 0:5—	+	<i>S. typhi</i>	+	<i>Shigella flexneri</i> 3	1977	11	18 a
<i>E. coli</i> 0111:K58	+	<i>E. coli</i> 0125:K70	+	<i>Shigella flexneri</i> 6	1977	12	3 m
<i>S. typhimurium</i> 0:5—	+	<i>Shigella flexneri</i> 2	+	<i>E. coli</i> 0111:K58	1978	01	2 m
<i>S. typhimurium</i> 0:5—	+	<i>E. coli</i> 086:K61	+	<i>E. coli</i> 0128:K67 ST+	1978	01	3 m
<i>S. typhimurium</i> 0:5—	+	<i>S. typhimurium</i> 0:5—LDC—	+	<i>E. coli</i> 086:K61	1978	01	2 m
<i>S. typhimurium</i> 0:5—	+	<i>E. coli</i> 0111:K58	+	<i>E. coli</i> 086:K61	1978	03	4 m
<i>S. agona</i>	+	<i>E. coli</i> 0111:K58	+	<i>Shigella flexneri</i> 2	1978	04	1 a
<i>S. typhimurium</i> 0:5— LDC—	+	<i>S. infantis</i>	+	<i>E. coli</i> 0111:K58	1978	05	3 m
<i>S. typhimurium</i> 0:5—	+	<i>S. agona</i>	+	<i>E. coli</i> 0111:K58	1979	03	5 m
<i>Shigella flexneri</i> 4	+	<i>Shigella boydii</i> 5	+	<i>Shigella sonnei</i>	1979	09	7 a
<i>S. typhimurium</i> 0:5—	+	<i>S. agona</i>	+	<i>E. coli</i> 0125:K70	1979	09	3 m
<i>S. typhimurium</i> 0:5—	+	<i>S. agona</i>	+	<i>E. coli</i> 086:K61	1979	12	2 m
<i>S. typhimurium</i> 0:5—	+	<i>S. agona</i>	+	<i>E. coli</i> 0111:K58	1980	09	4 a
<i>S. typhimurium</i> 0:5—	+	<i>E. coli</i> 0111:K58	+	<i>E. coli</i> 0119:K69	1980	10	3 m
<i>S. typhimurium</i> 0:5—	+	<i>S. agona</i>	+	<i>E. coli</i> 0111:K58	1981	03	4 m
<i>S. typhimurium</i> 0:5—	+	<i>S. agona</i>	+	<i>E. coli</i> 0119:K69	1981	03	3 m

+ Associação de enterobactérias.

LDC— Lisina descarboxilase negativa.

ST+ Produtora de toxina termoestável.

m mês.

a ano.

PESSOA, G.V.A.; IRINO, K.; CAIZADA, C.T.; KANO, E.; DIAS, A.M.G.; NEME, S.N.; SIMON-SEN, V. & VAZ, T.M.I. — Ocorrência de infecções entéricas múltiplas por enterobactérias patogênicas, no município de São Paulo, no sexênio 1977-1982. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43:97-103, 1988.

## DISCUSSÃO

O número de infecções entéricas múltiplas diagnosticado foi de 546, correspondendo a 10,32% do total de exames positivos obtidos neste período (tabela 1), percentual inferior ao obtido por PESSÓA *et alii*<sup>6</sup>, nos exames realizados durante o septênio 1970-1976, quando obtiveram um percentual de 14,80%.

A faixa etária em que predominou a infecção mista foi de 0 a 6 meses, representando 64% dos casos (tabela 2). Neste grupo etário é encontrado o maior número de infecções entéricas, refletindo provavelmente a responsabilidade do hospital, pois a quase totalidade dos casos era proveniente de hospitais infantis.

Analisando a tabela 3, observamos que as associações mais frequentes são formadas pelos sorotipos de *Salmonella* e sorogrupos de *E. coli* prevalentes no nosso meio. Assim, 25,62% do total de infecções duplas correspondeu ao modelo *S. typhimurium* mais *E. coli* 0111:K58. Verificamos também que mais de 60% das infecções duplas correspondeu às

associações de *S. typhimurium*, ou *S. agona* mais *E. coli* de sorogrupos mais frequentes, e à associação de dois sorotipos de *Salmonella* predominantes no nosso meio, *S. typhimurium* mais *S. agona*.

Durante este sextênio foram encontrados 20 casos de infecções triplas cujos tipos de associação são representados pelos sorogrupos de *E. coli* e sorotipos de *Salmonella* e de *Shigella* mais frequentes (tabela 4).

A detecção de mais de uma enterobactéria patogênica, ou de diferentes sorogrupos ou sorotipos de um mesmo gênero em uma única amostra de fezes, pode ter sido conseqüência da metodologia empregada na rotina de cada laboratório. Assim, na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, são isoladas aproximadamente 40 colônias do material de cada paciente e todas as cepas que, no diagnóstico presuntivo, apresentam características bioquímicas dos gênero *Escherichia*, *Shigella* ou *Salmonella*, são submetidas à identificação sorológica, pois diferentes colônias com características bioquímicas idênticas podem ser antigenicamente distintas.

RIALAG/564

PESSÓA, G.V.A.; IRINO, K.; CALZADA, C.T.; KANO, E.; DIAS, A.M.G.; NEME, S.N.; SIMONSEN, V. & VAZ, T.M.I. — Occurrence of multiple enteric infections by pathogenic enterobacteria in São Paulo County from 1977 to 1982. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):97-103, 1983.

**ABSTRACT:** The frequency of multiple enteric infections by members of *Enterobacteriaceae* was investigated in São Paulo county, state of São Paulo, Brasil, from 1977 to 1982. During this period, multiple enteric infections accounted for 10.32% of the fecal specimens positive for *Enterobacteriaceae*. This frequency corresponds to 526 samples with double infection and 20 with triple infection. The combination *Salmonella typhimurium* plus *Escherichia coli* 0111:K58 was the most frequent and the more affected age group was 0 to 6 months of age which includes 64% of the multiple infections.

**DESCRIPTORS:** *Enterobacteriaceae* infections, prevalence in São Paulo county, SP, Brazil.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BECK, M.D.; MUÑOZ, A. & SCRIMSHAW, N.S. — Studies on diarrheal diseases in Central America. 1. Preliminary findings on cultural surveys of normal population groups in Guatemala. *Amer. J. trop. Med. Hyg.* 6:62-71, 1957.
2. DEAN, A.G.; CHING, YI-CHUAN; WILLIAMS, R.G. & HARDEN, L. — Test for *Escherichia coli* enterotoxin using infant mice: application in a study of diarrhea in children in Honolulu. *J. infect. Dis.*, 125:407-11, 1972.
3. EDWARDS, P.R. & EWING, W.H. — *Identification of enterobacteriaceae*. 3th ed. Minneapolis, Burgess publ., 1978. p. 338.
4. HORMAECHE, E.; SURRACO, N.L.; PELUFFO, C.A. & ALEPPO, P.L. — Causes of infantile summer diarrhea. *Amer. J. Dis. Child.*, 66:1-13, 1943.
5. KOURANY, M. & VASQUEZ, M.A. — Enteropathogenic bacteria associated with diarrhea among infants in Panamá. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 18:930-35, 1969.

PESSÓA, G.V.A.; IRINO, K.; CALZADA, C.T.; KANO, E.; DIAS, A.M.G.; NEME, S.N.; SIMONSEN, V. & VAZ, T.M.I. — Ocorrência de infecções entéricas múltiplas por enterobactérias patogênicas, no município de São Paulo, no sextênio 1977-1982. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43:97-103, 1983.

---

6. PESSÓA, G.V.A.; IRINO, K.; MELLES, C.E.A.; CALZADA, C.T.; KANO, E. & SIMONSEN, V. — Ocorrência de bactérias enteropatogênicas em São Paulo no septênio 1970-76. IV — Infecções entéricas múltiplas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38:141-56, 1978.
7. PESSÓA, G.V.A. & PEIXOTO, E.S. — Caldo-selenito-novobiocina. Um meio de maior seletividade para o isolamento de *Salmonella* de fezes. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 31:1-3, 1971.
8. PESSÓA, G.V.A. & SILVA, E.A.M. — Milieu pour l'identification présumptive rapide des entérobactéries, des *Aeromonas* e des Vibrions. *Ann. Microbiol.*, Paris, Seccion A, 125:341-7, 1974.
9. SERÉNY, B. — Experimental keratoconjunctivitis shigellosa. *Acta microbiol. hung.*, 2:363-77, 1956.
10. 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*, 18:45-81, 1958.

*Recebido para publicação em 17 de junho de 1983.*





IDENTIFICAÇÃO E LISOTIPAGEM DE AMOSTRAS DE  
*SALMONELLA PARATYPHI* A, CAUSADORA DE SURTO  
EPIDÊMICO EM TUCURUI, PARÁ, BRASIL, EM 1980 \*

Gil Vital Alvares PESSÔA \*\*  
Zea Constante LINS \*\*\*  
Chifumi Takeuchi CALZADA \*\*  
Kinue IRINO \*\*  
Suzel Nogueira NEME \*\*  
Mathilde RASKIN \*\*  
Edna Talarico RODRIGUES \*\*\*\*

RIALA6/565

PESSÔA, G.V.A.; LINS, Z.C.; CALZADA, C.T.; IRINO, K.; NEME, S.N.; RASKIN, M. & RODRIGUES, E.T. — Identificação e lisotipagem de amostras de *Salmonella paratyphi* A causadora de surto epidêmico em Tucuruí, Pará, Brasil, em 1980. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):105-107, 1983.

RESUMO: Em agosto de 1980, em um canteiro de obras da hidrelétrica de Tucuruí, no Estado do Pará, ocorreu um surto epidêmico de salmonelose, durante o qual foram isoladas, no Hospital Vila Temporária, 101 cepas de *Salmonella* sp., através de hemocultura e coprocultura; 62 cepas foram enviadas à Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, e 39 à Seção de Bacteriologia do Instituto Evandro Chagas, Belém, onde foi feita a confirmação bioquímica do gênero e a sorotipagem. A lisotipagem de 55 cepas, efetuada no Centro de Lisotipia Entérica do Instituto Pasteur de Paris, França, demonstrou que todas pertenciam ao lisotipo lb, fato este que sugere origem única para o surto epidêmico em tela. Todas as cepas mostraram alta sensibilidade aos antimicrobianos aos quais foram submetidas: ampicilina, ácido nalidixico, cefalotina, estreptomina, canamicina, cloranfenicol, tetraciclina, gentamicina, ampicacina e colistina. Este foi o primeiro surto epidêmico de salmonelose por *Salmonella paratyphi* A assinalado no Brasil.

DESCRITORES: *Salmonella paratyphi* A, ocorrência; *Salmonella paratyphi* A, lisotipagem; surto epidêmico por *Salmonella paratyphi* A, Tucuruí, Pará, Brasil; epidemias.

INTRODUÇÃO

Em agosto de 1980 ocorreu um surto epidêmico de *Salmonella paratyphi* A entre os peões de um canteiro de obras da hidrelétrica de Tucuruí, no Estado do Pará. Este foi o primeiro surto epidêmico de febre entérica por *Salmonella paratyphi* A assinalado no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante o surto epidêmico, foram isoladas, no Hospital Vila Temporária, 101 cepas de *Salmonella* sp., através de hemocultura e coprocultura, das quais 39 foram enviadas à Seção de Bacteriologia do Instituto Evandro Chagas, Belém, Pará, para confirmação bioquímica do gênero e tipagem. Com o mesmo

\* Realizado na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, e no Instituto Evandro Chagas, Belém, PA.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

\*\*\* Do Instituto Evandro Chagas.

\*\*\*\* Do Hospital de Vila Temporária, Tucuruí, PA, Brasil.

PESSÓA, G.V.A.; LINS, Z.C.; CALZADA, C.T.; IRINO, K.; NEME, S.N.; RASKIN, M. & RODRIGUES, E.T. — Identificação e lisotipagem de amostras de *Salmonella paratyphi* A, causadora de surto epidêmico em Tucuruí, Pará, Brasil, em 1980. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43:105-107, 1983.

objetivo, as outras 62 amostras foram enviadas à Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, SP, tendo sido utilizada a metodologia empregada na Seção, descrita em publicações anteriores<sup>3</sup>.

Das 62 cepas recebidas, 56 foram encaminhadas ao Laboratório de Lisotipia Entérica, sob a direção do Dr. Vieu, no Instituto Pasteur de Paris, para realização da fagotipagem.

Paralelamente, foi estudado o comportamento destas linhagens frente aos seguintes antimicrobianos: ampicilina, ácido nalidíxico, cefalotina, estreptomomicina, canamicina, cloranfenicol, tetraciclina, gentamicina, amicacina e colistina. Os antibiogramas foram realizados de acordo com a técnica de BAUER *et alii*<sup>1</sup>, utilizando discos impregnados com os agentes antimicrobianos acima descritos.

### RESULTADOS

Todas as cepas enviadas às Seções de Bacteriologia dos Institutos Evandro Chagas e Adolfo Lutz apresentaram características bioquímicas e sorológicas de *Salmonella paratyphi* A.

Das 56 cepas enviadas ao Instituto Pasteur de Paris, para a realização da fagotipagem, 55 pertenciam ao lisotipo 1b, sugerindo uma origem única para este surto.

Todas as cepas apresentaram sensibilidade às drogas antimicrobianas testadas: ampicilina, ácido nalidíxico, cefalosporina, estreptomomicina, canamicina, cloranfenicol, tetraciclina, gentamicina, amicacina e colistina.

### DISCUSSÃO

*Salmonella paratyphi* A está entre as salmonelas que são patogênicas apenas para o

homem, no qual provocam um quadro de febre entérica. Apesar de ser responsável por surtos frequentes de febre entérica, na África e Ásia<sup>7</sup>, o seu isolamento não é freqüente em nosso meio, tendo sido isolada apenas em uma oportunidade na hemocultura, no septênio 1970-1976 (PESSÓA *et alii*<sup>5</sup>).

Uma das dificuldades no reconhecimento desta bactéria na rotina laboratorial, como no caso de coprocultura, é porque apenas 10% das cepas<sup>2</sup> produz H<sub>2</sub>S no sistema triplice açúcar-ferro (TSI), podendo a quase totalidade das cepas ser confundida com coliformes e, neste caso, fácil de ser desprezada. É digno de nota que nesta oportunidade as linhagens isoladas produzem grande quantidade de H<sub>2</sub>S, ao contrário do que se costuma observar comumente, conforme é referido por vários autores<sup>2,3,4</sup>, como sendo fracas produtoras de H<sub>2</sub>S. SANBORN *et alii*<sup>6</sup> em 1977, na Indonésia, encontraram, entre 221 cepas de *Salmonella paratyphi* A, a predominância do lisotipo 1, que é de distribuição cosmopolita. O mesmo ocorreu com as nossas amostras, pois todas elas pertenciam ao lisotipo 1b.

Segundo informações por nós obtidas, a provável causa desencadeante deste surto poderia ser atribuída ao hábito que tinham os peões de utilizarem água não-tratada para consumo, em detrimento da água tratada que lhes era oferecida.

É interessante referir a sensibilidade que estas cepas apresentaram a um grande leque de antimicrobianos.

A lisotipia é instrumento de importância epidemiológica, permitindo, a localização na origem de um surto epidêmico.

RIALA6/564

PESSÓA, G.V.A.; LINS, Z.C.; CALZADA, C.T.; IRINO, K.; NEME, S.N.; RASKIN, M. & RODRIGUES, E.T. — Identification and lysotyping of strains of *Salmonella paratyphi* A responsible for the outbreak of Tucuruí, Pará, Brazil, in 1980. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):105-107, 1983.

ABSTRACT: In August, 1980, an outbreak of salmonellosis occurred in Tucuruí, state of Pará, Brazil. Isolation of 101 strains of *Salmonella* sp. was made from blood and feces specimens at a local hospital. Biochemical and serological tests confirmed the genus and the serotype involved while lysotyping of 55 strains showed that all strains belonged to lysotype 1b, which suggests that the outbreak stemmed from a single source. All strains showed high susceptibility to the antibiotics: ampicillin, nalidixic acid, cephalothin, streptomycin, kanamycin, chloramphenicol, tetracycline, gentamicin, amikacin and colistin. This was the first outbreak of *S. paratyphi* A identified in Brazil.

DESCRIPTORS: *Salmonella paratyphi* A, occurrence; *Salmonella paratyphi* A, lysotyping; disease outbreak by *Salmonella paratyphi* A, Tucuruí, Pará, Brazil; epidemics.

PESSÓA, G.V.A.; LINS, Z.C.; CALZADA, C.T.; IRINO, K.; NEME, S.N.; RASKIN, M. & RODRIGUES, E.T. — Identificação e lisotipagem de amostras de *Salmonella paratyphi* A, causadora de surto epidêmico em Tucuruí, Pará, Brasil, em 1980. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43:105-107, 1983.

---

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C. & TURCK, M. — Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Amer. J. clin. Path.*, 45: 493-6, 1966.
2. EDWARDS, P.R. & EWING, W.H. — *Identification of Enterobacteriaceae*. Minneapolis, Burgess publ., c1962. p. 159.
3. KAUFFMANN, F. — *Serological diagnosis of Salmonella species Kauffmann-White scheme*. Baltimore, Williams & Wilkins, 1972. p. 126.
4. LE MINOR, L. & ROHDE, R. — Genus IV. *Salmonella* Lignières 1900, 389. In: BERGEY'S Manual of determinative bacteriology. 8th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1974. p. 298-318.
5. PESSÓA, G.V.A.; IRINO, K.; CALZADA, C.T.; MELLES, C.E.A. & KANO, E. — Ocorrência de bactérias enteropatógenicas em São Paulo, no septênio 1970-76. I — Sorotipos de *Salmonella* isolados e identificados. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38: 87-105, 1978.
6. SANBORN, W.R.; HABLAS, R.; KOMALARINI, S.; SINTA; TRENGGONOWATI, R.; SADIJIMIN, T.; ATAS & SUTRISNA — Salmonellosis in Indonesia: phage type distribution of *Salmonella paratyphi* A. *J. Hyg., Camb.*, 79:1-4, 1977
7. ZIMMERMAN, L.E.; COOPER, M.; GRABER, C.D. — Bacteriologic studies in an outbreak of salmonellosis in Korea, with special attention to *Salmonella paratyphi* and perforations of paratyphoid ulcers. *Amer. J. Hyg.*, 56:252-64, 1952.

Recebido para publicação em 29 de junho de 1983.



ÍNDICE DE AUTOR/AUTHOR INDEX

ALMEIDA, M.E.W., 33  
ARAÚJO, M.F.L., 25  
BADOLATO, E.S.G., 33  
BRANDILEONE, M.C.C., 89  
CALZADA, C.T., 89, 97, 105  
CHIATTONE, C.S., 85  
CHIEFFI, P.P., 47, 85  
CONCILLIO, M.S., 9  
DIAS, A.M.G., 89, 97  
DIAS, R.M.D.S., 47  
DURANTE, F., 33  
GARRIDO, N.S., 41  
HUTZLER, R.U., 55  
INOMATA, E.I., 9  
IRINO, K., 89, 97, 105  
ISHIDA, M.M.I., 27  
ISHIMARU, T., 81  
KANO, E., 89, 97  
LACERDA, J.P.G., 55  
LINS, Z.C., 105  
LOPEZ, F.C., 3  
MAKITA, E.M., 81  
MARTINEZ, C.H.O., 81  
MESSAS, M.M., 81  
MURATA, L.T.F., 41  
NAGAMORI, A.H., 47  
NEME, S.N., 89, 97, 105  
PAES, R.A.P., 85  
PAIVA, T.M., 81  
PESSÓA, G.V.A., 89, 97, 105  
PREGNOLATTO, N.P., 41  
PREGNOLATTO, W., 9, 15  
RASKIN, M., 105  
RIBEIRO, S.S., 25  
RODRIGUES, E.T., 105  
SABINO, M., 9  
SAKUMA, A.M., 15  
SILVEIRA, N.V.V., 69  
SIMONSEN, V., 97  
TAKAHASHI, M.Y., 69  
TAKIMOTO, S., 81  
TOLEDO, M., 15  
TOLEZANO, J.E., 25, 47  
TORRES, D.M.A.G.V., 47  
VAZ, T.M.I., 97  
WALDMAN, E.A., 55  
ZAMBONI, C.Q., 69



## INDICE DE ASSUNTO

- Ácido erúcido  
em mostarda de mesa, determinação, 33  
em mostarda, semente, determinação, 33
- Ácidos graxos  
em mostarda de mesa, determinação, 33  
em mostarda, semente, determinação, 33
- Alanina  
D, L alanina, em suco de maracujá, determinação, 9
- Animais silvestres  
hemoparasitismo  
Estado de São Paulo, Brasil, 47
- Cádmio, traços  
em crustáceos, ostras, peixes, detecção  
espectrofotometria de absorção atômica  
com chama, 15
- Café (torrado e moído)  
fraudes  
substâncias adicionadas ao pó, detecção, 3
- Caxumba, vírus  
veja Vírus da parotidite epidêmica
- Célula BHK-21, cultura  
vírus da parotidite epidêmica, isolamento, 81
- Chupeta  
análise de qualidade, 41  
cádmio, chumbo, detecção, 41
- Crustáceos  
cádmio, traços, detecção, 15
- Eosinofilia, 85
- Epidemia  
*Salmonella paratyphi* A  
Tucuruí, Pará, Brasil, 105
- Infecção cruzada  
em recém-nascidos, 55
- Infecção por enterobactérias, ocorrência  
Município de São Paulo, SP, Brasil, 97
- Infecção por enterovírus  
em recém-nascidos, 55
- Larva migrans visceral, síndrome, 85
- Mamadeira  
bicos e acessórios  
cádmio, chumbo, determinação, 41  
frasco de plástico  
análise de qualidade, 41
- Mamão (*Carica papaya*)  
semente, análise, 69
- Maracujá (*Passiflora edulis*)  
D, L alanina, determinação, 9
- Marsupiais  
hemoparasitismo, 47
- Morçegos  
veja em Quirópteros
- Mordedor  
análise de qualidade, 41  
cádmio, chumbo, detecção, 41
- Mostarda de mesa (preparada)  
ácido erúcido, determinação, 33  
fraudes, 33
- Mostarda, óleo de semente  
ácido erúcido, determinação, 33
- Ostras  
cádmio, traços, detecção, 15
- Parasitas  
hemoparasitas em animais silvestres  
Estado de São Paulo, Brasil, 47
- Parotidite epidêmica, vírus  
veja Vírus da parotidite epidêmica
- Peixes  
cádmio, traços, detecção, 15
- Pimenta-do-reino preta (*Piper nigrum*),  
fruto, moído, análise  
fraudes, detecção, 69
- Quirópteros (morcegos)  
hemoparasitismo, 47
- Recém-nascidos  
infecção cruzada, 55  
infecção por enterovírus, ocorrência, 55
- Salmonella paratyphi* A  
lisotipagem, 105  
surto epidêmico  
Tucuruí, Pará, Brasil, 105
- Salmonella typhimurium*  
lactose, fermentação, 89  
orto-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosídeo, hidrólise, 89
- Toxocara canis*, 85
- Triatoma infestans*  
crescimento, influência do jejum e da temperatura em laboratório, 25  
infecção experimental por *Trypanosoma cruzi*, 25
- Trypanosoma cruzi*, 25
- Vírus da parotidite epidêmica  
isolamento em cultura de célula BHK-21, 81





## SUBJECT INDEX

- Acids, analysis  
  erucic acid  
    in mustard seed oil, determination, 33  
    in prepared mustards, determination, 33  
  fatty acids  
    in mustard seed oil, determination, 33  
    in prepared mustards, determination, 33
- Alanine  
  D, L alanine  
    in purple granadilla, determination, 9
- Black pepper (*Piper nigrum*)  
  fruit, ground, analysis  
  frauds detection, 69
- Cadmium traces  
  in crustacean, fish, oysters, detection  
  atomic absorption spectrofotometry, 15
- Cell  
  BHK-21 cell culture  
    mumps virus isolation, 81
- Chiroptera  
  blood parasitism, 47
- Coffee (roasted and ground)  
  frauds  
    foreign matters detection, 3
- Cross infection, newborn, 55
- Crustacean  
  cadmium detection, 15
- Disease outbreak  
  *Salmonella paratyphi* A  
    Tucuruí, Pará, Brazil, 105
- Enterobacteriaceae* infections  
  prevalence in São Paulo County, SP, Bra-  
  zil, 97
- Enterovirus infections  
  newborn, occurrence, 55
- Eosinophilia, 85
- Epidemic parotitis virus  
  see Mumps virus
- Fatty acids, analysis, 33
- Fish  
  cadmium, traces, detection, 15
- Larva migrans, visceral, síndrome, 85
- Marsupialia  
  blood parasitism, 47
- Mumps virus  
  isolation in BHK-21 cell culture, 81
- Mustard, prepared  
  erucic acid determination, 33  
  frauds, 33
- Mustard seed oil  
  erucic acid determination, 33
- Myxovirus parotitidis  
  veja Mumps virus
- Newborn  
  cross infection, 55  
  enterovirus infection, occurrence, 55
- Nursing bottle  
  nipple and accessories  
    cadmium, lead, detection, 41  
  plastic countainer  
    quality control, 41
- Oysters  
  cadmium, traces, detection, 15
- Pacifiers  
  cadmium, lead, detection, 41  
  quality control, 41
- Papaya (*Carica papaya*)  
  seed, analysis, 69
- Parasites  
  hemoparasites in wild animals  
    São Paulo State, Brazil, 47
- Passion-fruit  
  see Purple granadilla
- Pepper  
  black pepper (*Piper nigrum*), 69
- Purple granadilla (*Passiflora edulis*), juice  
  D, L alanine determination, 9
- Salmonella paratyphi* A  
  disease outbreak  
    Tucuruí, Pará, Brazil, 105  
  lysotyping, 105
- Salmonella typhimurium*  
  lactose fermentation, 89  
  ortho-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopiranosid, hy-  
  drolysis, 89
- Toxocara canis*, 85
- Triatoma infestans*  
  experimental infection by *Trypanosoma*  
    *cruzi*, 25  
  growth, influence of fasting and laborato-  
  ry temperature, 25
- Trypanosoma cruzi*, 25
- Wild animals  
  blood parasitism  
    São Paulo State, Brazil, 47

