



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

RIAL6

VOLUME 44

NÚMERO 1

JUNHO, 1984



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 FLORÊNCIO DE SALLES GOMES
MYRNA SABINO
NEUS PASCUET PREGNOLATTO
ODAIR ZENEON
PEDRO PAULO CHIEFFI
ROBERTO A. PINTO PAES
SARA TETNER BURSTEIN, *Secretário*

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 —

1941-1983, 1-43

1984, 44(1,

ISSN 0073-9855
RIALAG

CDD₁₈ 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

ISSN 0073-9855
RIALA6

Rev. Inst. Adolfo Lutz, 44(1):1-86, jun. 1984.

SUMÁRIO/CONTENTS

- 566 Sorotipos de *Salmonella* identificados no período 1977-1982, no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil
Salmonella serotypes identified during the period 1977-1982, at Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brazil
Chifumi Takeuchi CALZADA; Suzel Nogueira NEME; Kinue IRINO; Elena KANO; Ângela Maria Girardi DIAS; Suely Aparecida FER-
NANDES; Tania Mara Ibelli VAZ & Gil Vital Álvares PESSÔA .. 1-18
- 567 Inibidores microbianos em leite pasteurizado do comércio da cidade de São Paulo
Microbe inhibitors in pasteurized milk sold in São Paulo City, Brazil
Dilma Scala GELLI; Miyoko JAKABI & Aldo de SOUZA 19-24
- 568 Frequência de anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae* em população de risco para cisticercose e em segmento de população considerado supostamente normal, em regiões do Estado de São Paulo, Brasil
Frequency of anti-Cysticercus cellulosae antibodies in high risk population for cysticercosis and in a segment considered as normal population, in areas of São Paulo State, Brazil
Mirthes UEDA; Paulo M. NAKAMURA; Eliseu A. WALDMAN; Pedro Paulo CHIEFFI; Ana Maria Carvalho de SOUZA; Marlene SPIR & Laércio J. Gerbi 25-28
- 569 Linfócitos T, B no sangue periférico de doentes com hepatite aguda
Levels of peripheral T and B lymphocytes in acute hepatitis
Adele Caterino de ARAÚJO; Irene Walter de FREITAS & Augusta Kiyomi TAKEDA 29-33
- 570 Avaliação da prova de hemaglutinação passiva no diagnóstico da leptospirose humana
Evaluation of passive hemagglutination test for human leptospirosis
Maricy Alves RIBEIRO; Antonella GODANO; Massami KAWARABA-YASHI; Raquel Bellinati Robert PIRES; Márcia de Souza Carvalho MELHEM; Thais Helena Sampaio VIANNA & Zélia Maria de Oliveira CAVALCANTE 35-40
- 571 Hemoparasitas de aves capturadas em duas regiões do Estado de São Paulo, Brasil
Hemoparasites in wild birds captured in two localities of São Paulo State, Brazil
Rosa Maria Donini Souza DIAS; Pedro Paulo CHIEFFI; José Eduardo TOLEZANO & Norival LUPETTI 41-46

- 572 *Trypanosoma* do subgênero *Herpetosoma* Doflein, 1901 em *Proechimys iheringi* Thomas, 1911 capturados no Estado de São Paulo, Brasil
Trypanosoma of subgenus Herpetosoma Doflein, 1909 in Proechimys iheringi Thomas, 1911 captured alive in São Paulo State, Brazil
 José Eduardo TOLEZANO; Pedro Paulo CHIEFFI; Rosa Maria Donini Souza DIAS; Elisabeth Visone NUNES; Osvaldo Martinez D'ANDRADE; Luís Eloy PEREIRA; Domingas Maria Aparecida Grispino Vieira TORRES & Norival LUPETTI 47-53
- 573 RV-IAL, nova linhagem celular de rim de vitelo. Características e susceptibilidade a alguns vírus
RV-IAL, a new cell line of calf kidney. Characteristics and susceptibility of some virus
 Aurea S. CRUZ; Mary E. SAKUMA & Clélia H. MARTINEZ 55-59
- 574 Frequência de amebas de vida livre em fezes de indivíduos de uma creche da cidade de São Paulo
Frequency free-living amebas in the feces of persons from a nurse in São Paulo City
 Sylvia Amaral Gurgel VELLOSA; Ana Célia Steffen MANGINI; Lucília dos Reis NUNES & Antonela Godano SCHLODTMANN 61-65
- 575 Amebas de vida livre (*Naegleria* sp. e *Acanthamoeba* sp.) isoladas de fezes humanas: patogenicidade para camundongos
Free-living amebas (Naegleria sp. and Acanthamoeba sp.) in human feces: pathogenicity for mice
 Sylvia Amaral Gurgel VELLOSA; Antonella Godano SCHLODTMANN; Venâncio Avancini Ferreira ALVES & Ana Célia Steffen MANGINI 67-72
- 576 Variáveis relacionadas ao desenvolvimento de *Triatoma infestans* Klug, 1834 em condições de laboratório. 1. Relação entre o repasto sanguíneo e o desenvolvimento
Variables influencing the growth of Triatoma infestans Klug 1834 in the laboratory. 1. Relation between blood meal and growth
 José Eduardo TOLEZANO; Pedro Paulo CHIEFFI; Maria de Fátima Leren de ARAÚJO; Anna Maria VALENTIM & Suzel Scalon RIBEIRO 73-79
- 577 Variáveis relacionadas ao desenvolvimento de *Triatoma infestans* Klug, 1834 em condições de laboratório. 2. Efeitos da manipulação na sobrevivência e na fertilidade
Variables influencing the growth of Triatoma infestans Klug 1834 in the laboratory. 2. Effects of handling on survival and fertility
 José Eduardo TOLEZANO; Maria de Fátima Leren de ARAÚJO; Pedro Paulo CHIEFFI; Anna Maria VALENTIM & Suzel Scalon RIBEIRO 81-86

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. A divisão das palavras no fim da linha deverá ser evitada, mesmo que a margem fique irregular. Com o propósito de acertá-la, não deverão ser usados hífen, barra 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. — Resolução n.º 01/82 do Conselho Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. *Diário Oficial*, Brasília, 10 de maio de 1982. Seção I, p. 8384-93. Aprova a Regulação Metrológica que com esta resolução baixa, para fiel observância).

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*. 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
0,0
0,00 { quando a aplicação dos critérios de arredondamento não permitir alcançar, respectivamente, os valores 1; 0,1; 0,01 etc.;
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 letras 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 (encabeçados 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 mesmos 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: ... TAUNAY³¹ verificou ...; para dois autores: ... LEME & CARRIJO¹⁹, pesquisando ...; para mais de dois autores: ... No trabalho de TSUNODA *et alii*⁶; ou ainda: ... segundo vários autores^{1, 3, 7, 8}.

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*, 4th ed. London, Butterworths, 963-65, 3 v.), m 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.; PESSÓA, 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 n.º da página consultada (ou n.º do volume e páginas, se a obra tiver mais de um volume).

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.

SOROTIPOS DE *SALMONELLA* IDENTIFICADOS NO PERÍODO 1977-1982, NO INSTITUTO ADOLFO LUTZ, SÃO PAULO, BRASIL *

Chifumi Takeuchi CALZADA **
Suzel Nogueira NEME **
Kinue IRINO **
Elena KANO **
Angela Maria Girardi DIAS **
Sueli Aparecida FERNANDES **
Tania Mara Ibelli VAZ **
Gil Vital Álvares PESSÓA **

RIALA6/566

CALZADA, C. T.; NEME, S. N.; IRINO, K.; KANO, E.; DIAS, A. M. G.; FERNANDES, S. A.; VAZ, T. M. I. & PESSÓA, G. V. A. — Sorotipos de *Salmonella* identificados no período 1977-1982, no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):1-18, 1984.

RESUMO: Foram identificados 124 sorotipos de *Salmonella* de origem humana e não humana, perfazendo um total de 25.022 cepas. De 15.892 cepas de origem humana, foram identificados 82 sorotipos, sendo *S. typhimurium*, *S. agona* e *S. typhi* os sorotipos prevalentes com 69,34%, 16,11% e 3,63%, respectivamente. Já os sorotipos isolados de material de origem não humana, *S. infantis*, *S. agona* e *S. typhimurium* com 14,28%, 14,18% e 10,58% respectivamente, foram os mais freqüentes entre os 103 sorotipos de um total de 9.130 cepas. Embora *S. typhimurium* permaneça como o sorotipo prevalente, é importante notar o rápido aumento de *S. agona* que, isolada pela primeira vez em São Paulo em 1974, é atualmente o segundo sorotipo mais freqüente. No estudo bioquímico de algumas cepas, na sua grande maioria de origem não-humana, observou-se a existência de sorotipos e variantes monofásicas com caracteres bioquímicos atípicos discordantes dos resultados clássicos obtidos para a classificação do gênero *Salmonella* em quatro subgêneros.

DESCRITORES: *Salmonella*, sorotipos, identificação; *Salmonella*, sorotipos, freqüência em São Paulo, Brasil.

INTRODUÇÃO

As salmoneloses constituem atualmente um sério problema de saúde pública em todo o mundo.

A ocorrência de infecções causadas por salmonelas, adaptadas à espécie humana, está relacionada ao saneamento básico, pois a transmissão inter-humana quase sempre se faz através da água e dos alimentos conta-

minados com material fecal. No nosso meio, a incidência de *Salmonella typhi* permanece em níveis endêmicos, e o isolamento de *Salmonella paratyphi* A tem se constituído em um evento raro.

As infecções alimentares causadas por salmonelas patogênicas para o homem e animais tem aumentado consideravelmente, sobretudo nos países industrializados, com a produção industrial de alimentos de origem

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

animal destinados ao consumo humano e animal, e também porque a criação intensiva de animais tem favorecido a introdução de novos sorotipos, e a sua disseminação^{3,5}. Em nosso meio, dezenas de sorotipos de *Salmonella* têm sido isolados de alimentos, causando infecções alimentares.

Entre nós, as salmoneloses hospitalares constituem um dos mais sérios problemas, onde as cepas multirresistentes às drogas são selecionadas e propagadas nestes ambientes. O mesmo tem sido assinalado em diversos outros países, atingindo principalmente os hospitais pediátricos e psiquiátricos.

O uso abusivo de antibióticos na medicina humana e veterinária para fins terapêuticos, profiláticos e eutróficos é muito arriscado, pois facilita a seleção e a disseminação de cepas com plasmídios de resistência que podem conter fatores que aumentam a virulência e a capacidade invasiva, constituindo assim uma ameaça à saúde.

A identificação completa das cepas e o conhecimento de seu perfil de resistência aos antimicrobianos são necessários, pois estes estudos constituem uma etapa indispensável na vigilância e controle das salmoneloses².

Neste trabalho serão analisados a prevalência e o comportamento de alguns sorotipos de *Salmonella*, assim como a ocorrência de cepas atípicas pertencentes aos subgêneros I, III e IV.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante o sexênio 1977-1982, o Setor de Enterobactérias, da Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, recebeu 25.022 cepas de *Salmonella* para a determinação do sorotipo e sua classificação em subgênero.

Das cepas estudadas, 15.892 foram isoladas de material humano, sendo 12.526 de fezes, 1.573 de sangue, 443 de líquido cefalorraquidiano, 144 de urina, 135 de secreções, e 1.071 eram de origem humana não especificada. As de origem não humana, provinham de praias (2.760), esgoto (4.234), água de rio (374), estação de tratamento de água (385), alimentos em geral (490), frutos do mar (370), moscas domésticas (15) e de meio ambiente (89), perfazendo um total de 9.130 cepas.

A identificação sorológica das cepas foi iniciada após a verificação da pureza das culturas e confirmação sorológica do gênero, utilizando a metodologia já descrita⁸. Quando as cepas eram imóveis ou variantes monofásicas de sorotipos normalmente bifásicas, estas foram classificadas em um dos quatro subgêneros de *Salmonella*, da classificação de Kauffmann. Os testes bioquímicos utilizados incluíram a fermentação da lactose, dulcitol, salicina e do mucato; hidrólise do ONPG (orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo) e da

gelatina; utilização do malonato de sódio e dos tartaratos, e verificação do crescimento em meio de cultura contendo cianeto de potássio⁷.

RESULTADOS

Foram identificados 124 sorotipos de *Salmonella*, nas 25.022 cepas estudadas. Na tabela 1 estão relacionados os sorotipos assim como as suas variedades sorológicas e bioquímicas.

Das 15.892 cepas de salmonelas de origem humana, foram identificados 82 sorotipos, cuja distribuição se vê na tabela 2.

Os 103 sorotipos identificados entre 9.130 cepas de origem não humana estão na tabela 3.

A distribuição em grupos sorológicos de todas as salmonelas identificadas está na tabela 4.

Na tabela 5 estão relacionados os sorotipos e variantes monofásicas que apresentaram caracteres bioquímicos atípicos.

Na tabela 6 e na 7 está relacionada a *S. agona* de origem humana e não humana.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Analisando a tabela 1, verificamos que *S. typhimurium* é o sorotipo predominante, representando 47,90% do total das cepas identificadas. A prevalência deste sorotipo no nosso meio já foi relatado por PESSOA et alii⁸, quando alcançou uma percentagem de 66,52% de 8.238 cepas, identificadas no período de sete anos (1970-1976). Nesta verificação, observamos que mais de 70% das cepas de *S. typhimurium* variedade 05 negativas apresentou características raramente assinaladas: fermentadoras tardias da lactose e multirresistentes aos agentes antimicrobianos. As variedades 05 positivas não fermentaram a lactose, não hidrolizaram o ONPG e se comportaram como sendo mais sensíveis às drogas.

Trabalhos de vários pesquisadores relatam *S. typhimurium* como sorotipo prevalente, incriminando-o como responsável pela maioria das infecções no homem. No presente estudo, 91,94% das cepas deste sorotipo foram isoladas de material humano, e apenas 8,06% foram isoladas de material de outras origens.

Embora *S. typhimurium* permaneça como sorotipo prevalente, verificamos que houve um declínio, se compararmos com os dados apresentados na pesquisa anterior⁸. Este declínio talvez seja devido à ascensão de *S. agona* que, a partir de 1977, permanece

como segundo sorotipo representando 15,41% do total das cepas estudadas.

Quando analisamos a tabela 4, onde estão distribuídos os sorotipos em sorogrupos, observamos que mais de 95% dos sorotipos pertencem aos grupos de A a E, sendo que os sorotipos representantes de outros sorogrupos constituem a minoria das cepas estudadas, à semelhança do que vem sendo verificado por outros autores⁶.

Os sorotipos de *Salmonella* isolados de material de origem humana, *S. typhimurium*, *S. agona* e *S. typhi* são os mais freqüentes, correspondendo a 69,34%, 16,11% e 3,03% respectivamente das cepas identificadas.

Se analisarmos a freqüência de sorotipos identificados entre as 9.130 cepas isoladas de material de origem não humana, temos *S. infantis*, *S. agona* e *S. typhimurium* como sorotipos mais freqüentes com 14,28%, 14,18% e 10,58% das cepas analisadas.

Com relação aos sorotipos de salmonelas adaptadas ao homem, a freqüência de *S. typhi* ainda é alta. Quanto à *S. paratyphi* A, sua elevada ocorrência deveu-se a um surto epidêmico de provável disseminação hídrica ocorrido em Tucuruí, Pará, em 1980, quando foram isoladas do sangue mais de 60 cepas.

Digno de nota é o aumento de *S. agona*, que correspondia apenas a 3,02% do total das cepas isoladas no período de 1970-1976. Considerado como sorotipo raro na década de 1960¹, propagou-se através da farinha de peixe proveniente do Peru, e atualmente é isolado de carnes e seus derivados⁶, provocando conseqüentemente infecções alimentares.

S. agona começou a ser isolado no nosso meio, a partir de 1974, tendo sido identificadas neste ano 20 cepas isoladas de material de origem humana. Nos anos subseqüentes este sorotipo começou a ser isolado a partir de material humano (fezes, líquido cefaloraquidiano), e o número de isolamentos a partir de alimentos, como carnes e seus derivados, ração para aves, esgoto, praia etc. tem aumentado de maneira significativa⁶.

Neste trabalho foram estudadas 3.855 cepas pertencentes a este sorotipo, quando 66,40% foram isoladas de material humano e 33,60% de material de outra origem.

Pelos dados observados na tabela 6, verificamos que, em relação às cepas de origem humana, este sorotipo representa o segundo mais freqüente nestes seis anos (1977-1982). Quando analisamos a distribuição anual em relação às amostras de material de origem não humana (tabela 7), verificamos que houve uma oscilação entre o primeiro e quinto sorotipo mais freqüente, dependendo da origem do material.

Quanto à sensibilidade aos agentes antimicrobianos, a grande maioria das cepas de *S. agona* passou a apresentar várias marcas de resistência, o que pode levar a problemas graves em casos de surtos em unidades pediátricas.

Deve-se lembrar que o ocorrido com *S. agona* pode ocorrer com qualquer um dos sorotipos identificados neste período o que, embora em percentagens não significativas, pode representar uma ameaça latente.

No estudo bioquímico para a divisão do gênero *Salmonella* em quatro subgêneros, observamos a ocorrência de sorotipos e variantes monofásicas que apresentaram até três caracteres atípicos para o subgênero (tabela 5). As cepas pertencentes ao subgênero I, na sua grande maioria tinham a capacidade de crescer em meio de cultura contendo cianeto de potássio, assemelhando-se às cepas pertencentes ao subgênero IV. Associado ou não a este caráter atípico para o subgênero I, apresentaram outros caracteres aberrantes tais como a ausência da fermentação do dulcitol e do mucato, e da utilização do tartarato. *S. guarapiranga*, sorotipo recentemente isolado e descrito⁴, apresentou, como caráter atípico ONPG positivo, e dosagem de β -galactosidase negativa. Quanto ao sorotipo S.III 17:z4,z32:—, sorotipo pertencente ao subgênero III, apresentou três comportamentos bioquímicos atípicos, isto é, ausência da fermentação do mucato, não utilização do malonato, e negatividade no teste de ONPG. Quanto à cepa S.IV 11:z4,z32:—, constitui também uma cepa aberrante para o subgênero IV, por não fermentar a salicina e por não crescer em meio de cultura contendo cianeto de potássio.

A existência de um grande número de sorotipos de *Salmonella* e a gravidade da problemática na salmonelose tanto de origem humana, problema maior nos países subdesenvolvidos, como de origem animal, de persistente presença em países desenvolvidos, têm dirigido os pesquisadores para um melhor estudo da estrutura antigênica deste gênero e pesquisa de novos mecanismos de virulência.

Em nosso país, que tem extensão continental, pouco se conhece da problemática das salmoneloses. Os trabalhos, quando existentes, refletem o ocorrido em apenas alguns centros de pesquisa, sendo que a maioria deles carece de maior valor em relação ao estudo de sua epidemiologia.

É necessário que sejam feitos esforços em nível nacional para que possamos registrar a prevalência de sorotipos para uma avaliação epidemiológica, com o objetivo do controle desse problema responsável por doenças que atingem tanto o homem como os animais, afetando uma parte considerável da população e ocasionando grandes perdas econômicas para o país.

TABELA 1

Número de sorotipos e origem das salmonelas identificadas no período 1977-1982

(Continua)

Origem Sorotipos	Material humano							Material não-humano											Total geral
	Fezes	Sangue	LCR	Urina	Secreção	N.E.	Total parcial	Praia	Esgoto	E.T.A.	Rio	Alimento	Frutos do mar	Visceras animais	Ração	Moscas	Ambiente	Total parcial	
<i>S. typhimurium</i>	8.352	1.024	373	93	103	534	10.479	118	366	44	8	7	57	10	1	—	85	696	11.175
<i>S. typhimurium</i> 0:5+	207	6	1	4	4	46	268	147	80	13	—	10	9	—	1	—	2	262	530
<i>S. typhimurium</i> LDC—	231	20	7	1	2	11	272	—	1	—	—	—	—	—	1	—	—	2	274
<i>S. typhimurium</i> indol+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	5	5
<i>S. typhimurium</i> 0:5+ LDC—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1
<i>S. agona</i>	2.343	34	16	6	5	155	2.559	478	695	42	6	43	5	11	15	—	1.295	3.854	
<i>S. agona</i> LDC—	1	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
<i>S. infantis</i>	216	14	—	5	1	23	259	463	214	41	8	94	—	4	6	—	—	830	1.089
<i>S. infantis</i> 0:14+	41	1	1	—	—	13	56	65	292	50	1	49	—	5	12	—	—	474	530
<i>S. derby</i>	64	3	4	—	—	4	75	180	559	—	29	37	66	1	—	—	—	872	947
<i>S. anatum</i>	76	1	—	1	—	25	103	222	375	—	61	57	—	2	33	—	—	750	853
<i>S. anatum</i> LDC—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	20	—	—	20	20
<i>S. typhi</i>	120	325	2	6	1	28	482	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1	483
<i>S. minnesota</i>	14	1	1	—	—	1	17	177	173	18	—	20	29	1	1	—	—	419	436
<i>S. newport</i>	79	1	2	8	1	34	125	22	95	1	73	36	68	1	1	—	—	297	422
<i>S. panama</i>	66	3	3	—	—	4	76	13	158	—	15	7	—	2	2	—	—	197	273
<i>S. tennessee</i>	8	—	—	—	—	1	9	51	164	—	—	18	—	—	6	—	—	239	248
<i>S. tennessee</i> 0:14+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	3	3
<i>S. oranienburg</i>	48	1	—	—	—	6	55	25	126	—	2	13	—	—	7	—	—	173	228
<i>S. muenchen</i>	19	—	—	—	—	15	34	107	18	—	2	3	—	2	—	—	—	132	166
<i>S. inganda</i>	22	—	—	—	—	2	24	41	77	—	1	12	—	—	1	—	—	132	156
<i>S. senftenberg</i>	4	—	—	—	—	3	7	74	38	—	4	2	—	1	—	—	—	149	156
<i>S. enteritidis</i>	45	5	4	1	3	5	63	38	47	—	3	—	—	1	—	—	—	89	152
<i>S. I 4,12:—:—</i>	98	4	8	2	2	10	124	—	12	—	—	—	—	—	—	—	—	13	137
<i>S. newington</i>	3	—	—	—	—	—	3	59	46	—	—	—	24	—	—	—	—	129	132
<i>S. bredeney</i>	26	2	—	—	—	14	42	30	47	—	1	4	—	—	8	—	—	90	132
<i>S. quiniela</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	47	74	—	—	—	—	—	—	121	121
<i>S. havana</i>	6	—	—	—	—	1	7	38	44	—	4	2	—	—	24	—	—	112	119
<i>S. dublin</i>	21	15	3	7	4	2	52	1	1	—	—	39	—	14	2	7	—	64	116
<i>S. haardt</i>	28	1	—	—	—	7	36	42	12	—	21	—	—	—	—	—	—	75	111
<i>S. sandiego</i>	24	1	—	—	—	6	31	4	61	1	—	4	—	—	1	—	—	71	102

CAIZADA, C. T.; NEME, S. N.; IRINO, K.; KANO, E.; DIAS, A. M. G.; FERNANDES, S. A.; VAZ, T. M. I. & PESSOA, G. V. A. — Sorotipos de *Salmonella* identificados no período 1977-1982, no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):1-18, 1984.

<i>S. javiana</i>	2	—	—	2	—	7	11	—	22	—	3	—	61	—	—	—	—	—	86	97
<i>S. heidelberg</i>	12	—	2	—	2	1	17	—	67	—	—	—	—	—	—	—	—	80	97	
<i>S. montevideo</i>	6	—	—	—	—	2	8	—	54	—	—	—	—	—	—	—	—	87	95	
<i>S. saintpaul</i>	39	1	1	—	—	—	72	14	7	—	2	—	1	—	—	—	—	23	95	
<i>S. lille</i>	1	—	—	—	—	—	1	84	2	—	—	—	—	—	—	—	—	89	90	
<i>S. eimsbuettel</i>	2	—	—	—	—	—	2	—	51	10	—	—	—	—	—	—	3	87	89	
<i>S. glostrup</i>	2	1	1	—	1	18	23	—	13	31	12	7	—	—	—	—	26	87	89	
<i>S. I 4,5,12:i:—</i>	72	4	—	2	4	—	82	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	63	86	
<i>S. lexington</i>	3	—	—	—	—	—	3	15	38	—	9	3	—	—	—	—	—	1	83	
<i>S. kentucky</i>	—	—	—	—	—	1	1	42	14	—	—	—	—	—	—	—	3	68	71	
<i>S. paratyphi A</i>	6	62	—	—	—	—	68	—	—	—	—	—	—	—	—	—	14	70	71	
<i>S. pomona</i>	1	—	—	—	—	—	1	—	—	31	11	—	—	—	—	—	—	—	68	
<i>S. cerro</i>	1	—	—	—	—	2	3	5	7	—	3	7	—	—	—	—	7	49	50	
<i>S. oslo</i>	15	—	—	—	—	6	21	19	2	—	—	—	—	—	—	—	19	41	44	
<i>S. binza</i>	—	—	—	—	—	—	—	18	1	—	—	1	—	—	—	—	—	21	42	
<i>S. I 4,12:i:—</i>	21	13	4	1	—	—	39	—	—	—	—	—	—	—	—	—	20	40	40	
<i>S. poona</i>	3	1	—	—	—	—	16	10	9	—	—	—	—	—	—	—	1	1	40	
<i>S. saphra</i>	2	—	—	—	—	—	2	27	6	—	1	—	—	—	—	—	1	20	36	
<i>S. meleagridis</i>	4	—	—	—	—	3	7	22	—	—	2	—	—	—	—	—	1	34	36	
<i>S. gäve</i>	8	—	—	—	—	5	13	1	18	—	—	1	—	—	—	—	2	27	34	
<i>S. bovisorbificans</i>	15	1	—	—	—	2	18	—	3	—	9	—	—	—	—	—	—	20	33	
<i>S. coela</i>	4	—	—	—	—	1	5	—	24	—	—	—	—	—	—	—	—	12	30	
<i>S. I 9,12:—:—</i>	2	2	—	—	—	1	5	—	21	—	—	—	—	—	—	—	—	24	29	
<i>S. III 65:1v:z35</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	22	27	
<i>S. grumpensis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	26	26	
<i>S. claibornei</i>	—	—	—	—	—	—	—	8	—	—	—	—	—	—	—	—	16	24	24	
<i>S. brandenburg</i>	5	—	—	—	—	4	9	—	13	—	1	—	—	—	—	—	—	23	23	
<i>S. cubana</i>	—	—	—	—	—	—	—	16	2	—	—	—	—	—	—	—	—	13	22	
<i>S. I 6,7:—:—</i>	5	3	—	—	—	—	9	—	11	—	—	—	—	—	—	—	3	21	21	
<i>S. gallinarum-pullorum</i>	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	11	20	
<i>S. paratyphi B</i>	2	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	19	19	
<i>S. java</i>	1	—	—	—	—	—	2	—	17	—	—	—	—	—	—	—	—	17	19	
<i>S. ohio</i>	1	—	—	—	—	—	1	—	18	—	—	—	—	—	—	—	—	18	19	
<i>S. madelia</i>	2	—	—	—	—	—	—	6	5	—	1	1	—	—	—	—	—	18	18	
<i>S. I 4,12:b:—</i>	7	—	—	—	—	1	3	7	2	—	5	—	—	—	—	—	—	15	18	
<i>S. stanleyville</i>	—	—	—	—	—	1	8	—	9	—	—	—	—	—	—	—	—	9	17	
<i>S. thompson</i>	3	—	—	—	—	—	—	—	16	—	—	—	—	—	—	—	—	16	16	
<i>S. abaetetuba</i>	1	—	—	—	—	—	3	1	11	—	—	—	—	—	—	—	—	12	15	
<i>S. rissen</i>	1	—	—	—	—	—	1	5	7	—	1	—	—	—	—	—	—	13	14	
<i>S. II sophia</i>	2	—	—	—	—	—	2	11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	11	13	
<i>S. I 4,5,12:—:—</i>	6	—	—	—	—	2	8	—	1	—	—	3	—	—	—	—	—	5	13	
<i>S. I 4,5,12:—:—</i>	1	—	—	—	—	—	1	—	9	—	—	—	—	—	—	—	—	9	10	
<i>S. miami</i>	5	—	—	—	—	1	6	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	3	9	
<i>S. hitechfield</i>	4	—	—	—	—	—	4	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	3	7	
<i>S. IV 11:z4,z32:—</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6	—	—	—	—	—	—	—	6	6	
<i>S. worthington</i>	2	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	6	

CAIZADA, C. T.; NEME, S. N.; IRINO, K.; KANO, E.; DIAS, A. M. G.; FERNANDES, S. A.; VAZ, T. M. I. & PESSOA, G. V. A. — Sorotipos de *Salmonella* identificados no período 1977-1982, no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):1-18, 1984.

Origem Sorotipos	Material humano							Material não-humano										Total geral	
	Fezes	Sangue	LCR	Urina	Secreção	N.E.	Total parcial	Praia	Esgoto	E.T.A.	Rio	Alimento	Frutos do mar	Visceras animais	Ração	Moscas	Ambiente		Total parcial
	<i>S. I 16:1v:—</i>	—	—	—	—	—	—	—	5	1	—	—	—	—	—	—	—		—
<i>S. rubislaw</i>	4	—	—	—	—	—	4	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	2	6
<i>S. albany</i>	6	—	—	—	—	—	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6
<i>S. belém</i>	2	—	—	—	—	—	2	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—	4	6
<i>S. bornum</i>	1	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6
<i>S. bergen</i>	—	—	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	4	—	—	4	5
<i>S. butantan</i>	—	—	—	—	—	—	—	1	4	—	—	—	—	—	—	—	—	5	5
<i>S. london</i>	2	—	—	—	—	1	3	—	1	—	—	—	—	—	1	—	—	2	5
<i>S. mbandaka</i>	2	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	1	—	—	2	—	—	3	5
<i>S. mbandaka 0:14+</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	5
<i>S. I 4,12:—:1,2</i>	5	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5
<i>S. I 9,12:i:—</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	5
<i>S. seremban</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	—	—	—	—	—	—	4	4
<i>S. nienstedten</i>	4	—	—	—	—	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4
<i>S. I 4,12:—:1,6</i>	4	—	—	—	—	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4
<i>S. I 6,7:—:1,5</i>	1	2	—	—	—	1	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4
<i>S. thomasville</i>	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	4
<i>S. livingstone</i>	1	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	3	3
<i>S. alachua</i>	—	—	—	—	—	—	—	2	1	—	—	—	—	—	1	—	—	2	3
<i>S. indiana</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	3	—	—	—	3	3
<i>S. gloucester</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	3	3
<i>S. IV ochsenzoll</i>	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	3
<i>S. I 6,7:c:—</i>	3	—	—	—	—	—	3	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	3	3
<i>S. newbrunswick</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	2	3
<i>S. IV bockenhein</i>	—	—	—	—	—	1	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	2
<i>S. carrau</i>	2	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
<i>S. pensacola</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
<i>S. guarapiranga</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	2
<i>S. manhattan</i>	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
<i>S. cotia</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	2
<i>S. falkensee</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
<i>S. molade</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
<i>S. alechavaleta</i>	1	—	—	—	—	1	2	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	2	2
<i>S. halmstad</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2

(continuação)

CALZADA, C. T.; NEME, S. N.; IRINO, K.; KANO, E.; DIAS, A. M. G.; FERNANDES, S. A.; VAZ, T. M. I. & PESSOA, G. V. A. — Sorotipos de *Salmonella* identificados no período 1977-1982, no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):1-18, 1984.

(conclusão)

Origem Sorotipos	Material humano							Material não-humano										Total geral	
	Fezes	Sangue	LCR	Urina	Secreção	N.E.	Total parcial	Praia	Esgoto	E.T.A.	Rio	Alimento	Frutos do mar	Visceras animais	Ração	Moscas	Ambiente		Total parcial
S. I 4,12:z10:—	1	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
S. I 1,3,10:r:—	1	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
S. I 6,7:1v:—	1	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
S. IV 44:z36,z38:—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1
S. III 61:i:z53	—	—	—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
S. <i>schwarzengrund</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	1
<i>Salmonella</i> (rugosa)	35	19	9	3	2	10	78	—	16	—	—	3	25	—	1	—	1	46	124
Total	12.526	1.573	443	144	185	1.071	15.892	2.760	4.234	385	374	490	370	89	324	15	89	9.130	25.022

NE = não especificado

LDC = lisina descarboxilase

LCR = líquido cefalorraquidiano

E.T.A. = estação de tratamento de água

CAIZADA, C. T.; NEME, S. N.; IRINO, K.; KANO, E.; DIAS, A. M. G.; FERNANDES, S. A.; VAZ, F. M. I. & PESSÓA, G. V. A. — Sorotipos de *Salmonella* identificados no período 1977-1982, no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):1-18, 1984.

CALZADA, C. T.; NEME, S. N.; IRINO, K.; KANO, E.; DIAS, A. M. G.; FERNANDES, S. A.; VAZ, T. M. I. & PESSÓA, G. V. A. — Sorotipos de *Salmonella* identificados no período 1977-1982, no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):1-18, 1984.

TABELA 2

Número e porcentagem de sorotipos de salmonelas de origem humana identificados no período de 1977-1982

(*Continua*)

Sorotipos	Número	Porcentagem
<i>S. typhimurium</i>	11.019	69,34
<i>S. agona</i>	2.560	16,11
<i>S. typhi</i>	482	3,03
<i>S. infantis</i>	315	1,98
<i>S. newport</i>	125	0,79
S.I 4,12:—:—	124	0,78
<i>S. anatum</i>	103	0,65
S.I 4,5,12:i:—	82	0,52
<i>S. panama</i>	76	0,48
<i>S. derby</i>	75	0,47
<i>S. saintpaul</i>	72	0,45
<i>S. paratyphi A</i>	68	0,43
<i>S. enteritidis</i>	63	0,40
<i>S. oranienburg</i>	55	0,35
<i>S. dublin</i>	52	0,33
<i>S. bredeney</i>	42	0,26
S.I 4,12:i:—	40	0,25
<i>S. haardt</i>	36	0,23
<i>S. muenchen</i>	34	0,21
<i>S. sandiego</i>	31	0,19
<i>S. inganda</i>	24	0,15
<i>S. glostrup</i>	23	0,14
<i>S. oslo</i>	21	0,13
<i>S. bovismorbificans</i>	18	0,11
<i>S. heidelberg</i>	17	0,10
<i>S. minnesota</i>	17	0,10
<i>S. poona</i>	16	0,09
<i>S. give</i>	13	0,08
<i>S. javiana</i>	11	0,07
<i>S. brandenburg</i>	9	0,06
<i>S. tennessee</i>	9	0,06
S.I 6,7:—:—	9	0,06
<i>S. montevideo</i>	8	0,05
S.II sofia	8	0,05
S.I 4,12:b:—	8	0,05
<i>S. havana</i>	7	0,04
<i>S. meleagridis</i>	7	0,04
<i>S. senftenberg</i>	7	0,04
<i>S. albany</i>	6	0,04
<i>S. miami</i>	6	0,04
<i>S. coeln</i>	5	0,03
S.I 4,12:—:1,2	5	0,03
S.I 9,12:—:—	5	0,03
<i>S. litchfield</i>	4	0,02
<i>S. nienstedten</i>	4	0,02
<i>S. rubislaw</i>	4	0,02
S.I 4,12:—:1,6	4	0,02
S.I 6,7:—:1,5	4	0,02
<i>S. cerro</i>	3	0,02
<i>S. lexington</i>	3	0,02
<i>S. london</i>	3	0,02
<i>S. madelia</i>	3	0,02
<i>S. newington</i>	3	0,02
<i>S. thompson</i>	3	0,02
S.I 6,7:c:—	3	0,02
<i>S. arechavaleta</i>	2	0,01
<i>S. belem</i>	2	0,01
<i>S. carrau</i>	2	0,01
<i>S. choleraesuis</i>	2	0,01

CALZADA, C. T.; NEME, S. N.; IRINO, K.; KANO, E.; DIAS, A. M. G.; FERNANDES, S. A.; VAZ, T. M. I. & PESSÓA, G. V. A. — Sorotipos de *Salmonella* identificados no período 1977-1982, no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):1-18, 1984.

(conclusão)

Sorotipos	Número	Porcentagem
<i>S. eimsbuettel</i>	2	0,01
<i>S. mbandaka</i>	2	0,01
<i>S.IV marina</i>	2	0,01
<i>S. rissen</i>	2	0,01
<i>S. paratyphi B</i>	2	0,01
<i>S. saphra</i>	2	0,01
<i>S.IV wassenaar</i>	2	0,01
<i>S. worthington</i>	2	0,01
<i>S.IV 48:z4,z24:—</i>	2	0,01
<i>S. abaetetuba</i>	1	0,01
<i>S. bonariensis</i>	1	0,01
<i>S. bornum</i>	1	0,01
<i>S. blockley</i>	1	0,01
<i>S.IV bockenheim</i>	1	0,01
<i>S. californica</i>	1	0,01
<i>S. emek</i>	1	0,01
<i>S. elisabthville</i>	1	0,01
<i>S. gallinarum-pullorum</i>	1	0,01
<i>S. irumu</i>	1	0,01
<i>S. java</i>	1	0,01
<i>S. kentucky</i>	1	0,01
<i>S. lille</i>	1	0,01
<i>S. livingstone</i>	1	0,01
<i>S. makiso</i>	1	0,01
<i>S. pomona</i>	1	0,01
<i>S. rawash</i>	1	0,01
<i>S. reading</i>	1	0,01
<i>S. wagenia</i>	1	0,01
<i>S. zwickau</i>	1	0,01
<i>S.I 1,3,10:r:—</i>	1	0,01
<i>S.I 3,10:1,v:—</i>	1	0,01
<i>S.I 3,15:c:—</i>	1	0,01
<i>S.I 4,12:z10:—</i>	1	0,01
<i>S.I 4,5,12:—:—</i>	1	0,01
<i>S.I 6,7:1,v:—</i>	1	0,01
<i>S.I 6,8:—:—</i>	1	0,01
<i>S.I 17:—:—</i>	1	0,01
<i>S.I 9,12:—:1,5</i>	1	0,01
<i>S.III 50:i:z</i>	1	0,01
<i>S.III 53:z4,z23:—</i>	1	0,01
<i>S.III 59:—:—</i>	1	0,01
<i>S.III 61.i:z53</i>	1	0,01
<i>S.IV 40:z4,z32:—</i>	1	0,01
<i>Salmonella sp (rugosa)</i>	78	0,49
Total	15.892	—

CALZADA, C. T.; NEME, S. N.; IRINO, K.; KANO, E.; DIAS, A. M. G.; FERNANDES, S. A.; VAZ, T. M. I. & PESSÔA, G. V. A. — Sorotipos de *Salmonella* identificados no período 1977-1982, no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):1-18, 1984.

TABELA 3

Número e percentagem de sorotipos de *Salmonella* isolados de material de origem não-humana identificados no período 1977-1982

(Continua)

Sorotipos	Número	Percentagem
<i>S. infantis</i>	1.304	14,28
<i>S. agona</i>	1.295	14,18
<i>S. typhimurium</i>	966	10,58
<i>S. derby</i>	872	9,55
<i>S. anatum</i>	770	8,43
<i>S. minnesota</i>	419	4,59
<i>S. newport</i>	297	3,25
<i>S. tennessee</i>	242	2,65
<i>S. panama</i>	197	2,16
<i>S. oranienburg</i>	173	1,90
<i>S. senftenberg</i>	149	1,63
<i>S. inganda</i>	132	1,45
<i>S. muenchen</i>	132	1,45
<i>S. newington</i>	129	1,41
<i>S. quiniela</i>	121	1,33
<i>S. havana</i>	112	1,23
<i>S. bredeney</i>	90	0,99
<i>S. enteritidis</i>	89	0,98
<i>S. lille</i>	89	0,98
<i>S. eimsbuettel</i>	87	0,96
<i>S. monteideo</i>	87	0,96
<i>S. javiana</i>	86	0,95
<i>S. heidelberg</i>	80	0,88
<i>S. haardt</i>	75	0,82
<i>S. sandiego</i>	71	0,78
<i>S. kentucky</i>	70	0,77
<i>S. lexington</i>	68	0,75
<i>S. dublin</i>	64	0,70
<i>S. glostrup</i>	63	0,69
<i>S. pomona</i>	49	0,54
<i>S. cerro</i>	41	0,45
<i>S. binza</i>	40	0,44
<i>S. saphra</i>	34	0,37
<i>S. meleagridis</i>	27	0,30
S.III 65:1,v:z35	26	0,29
<i>S. coeln</i>	24	0,27
<i>S. grumpensis</i>	24	0,27
<i>S. clairbornei</i>	23	0,25
<i>S. saintpaul</i>	23	0,25
S.I 9,12:—:—	22	0,24
<i>S. cubana</i>	21	0,23
<i>S. oslo</i>	21	0,23
<i>S. give</i>	20	0,22
<i>S. poona</i>	20	0,22
<i>S. gallinarum-pullorum</i>	19	0,21
<i>S. java</i>	18	0,20
<i>S. ohio</i>	18	0,20
<i>S. paratyphi B</i>	17	0,19
<i>S. stanleyville</i>	16	0,18
<i>S. madeha</i>	15	0,16
<i>S. abaetetuba</i>	13	0,14
<i>S. brandenburg</i>	13	0,14
S.I 4,12:—:—	13	0,14
<i>S. bovismortificans</i>	12	0,13
<i>S. thompson</i>	12	0,13
<i>S. rissen</i>	11	0,12
S.I 6,7:—:—	11	0,12
S.I 4,5,12:—:—	9	0,10

CALZADA, C. T.; NEME, S. N.; IRINO, K.; KANO, E.; DIAS, A. M. G.; FERNANDES, S. A.; VAZ, T. M. I. & PESSÓA, G. V. A. — Sorotipos de *Salmonella* identificados no período 1977-1982, no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):1-18, 1984.

(conclusão)

Sorotipos	Número	Porcentagem
S.I 4,12:b:—	9	0,10
S.I 16:1,v:—	6	0,07
S.IV 11:z4,z32:—	6	0,07
<i>S. bergen</i>	5	0,05
<i>S. butantan</i>	5	0,05
<i>S.II sofia</i>	5	0,05
S.I 9,12:i:—	5	0,05
<i>S. belem</i>	4	0,04
<i>S. bornum</i>	4	0,04
<i>S. mbandaka</i>	4	0,04
<i>S. serembam</i>	4	0,04
<i>S. worthington</i>	4	0,04
<i>S. alachua</i>	3	0,03
<i>S. gloucester</i>	3	0,03
<i>S. indiana</i>	3	0,03
<i>S. litchfield</i>	3	0,03
<i>S. miami</i>	3	0,03
<i>S. thomasville</i>	3	0,03
<i>S.IV ochsenzoll</i>	3	0,03
<i>S. cotia</i>	2	0,02
<i>S. falkensee</i>	2	0,02
<i>S. guarapiranga</i>	2	0,02
<i>S. halmstad</i>	2	0,02
<i>S. isangi</i> 014 +	2	0,02
<i>S. livingstone</i>	2	0,02
<i>S. london</i>	2	0,02
<i>S. manhattan</i>	2	0,02
<i>S. molade</i>	2	0,02
<i>S. newbrunswick</i>	2	0,02
<i>S. pensacola</i>	2	0,02
<i>S. rubislaw</i>	2	0,02
<i>S. taksony</i>	2	0,02
<i>S.II uphill</i>	2	0,02
S.I 4,12:d:—	2	0,02
S.I 8:—:—	2	0,02
S.I 9,12:k:—	2	0,02
S.III 16:z10:e,n,x,z15	2	0,02
S.III 17:z4,z23,z32:—	2	0,02
S.III 35:1,v:z35	2	0,02
S.IV 44:g,z51:—	2	0,02
<i>S. californica</i>	1	0,01
<i>S. cambridge</i>	1	0,01
<i>S. emek</i>	1	0,01
<i>S. marseille</i>	1	0,01
<i>S. portland</i>	1	0,01
<i>S. schwarzengrund</i>	1	0,01
<i>S. thielallee</i>	1	0,01
<i>S. typhi</i>	1	0,01
<i>S. vteuten</i>	1	0,01
<i>S.IV bockenheim</i>	1	0,01
<i>S.IV soesterberg</i>	1	0,01
S.I 3,10:1,v:—	1	0,01
S.I 4,12:i:—	1	0,01
S.I 4,5,12:i:—	1	0,01
S.I 9,12:—:1,5	1	0,01
S.III 50:c:z	1	0,01
S.III 61:i:z	1	0,01
S.III 61:z52:1,5,7	1	0,01
S.IV 44:z36,z38:—	1	0,01
<i>Salmonella sp (rugosa)</i>	46	0,50
Total	—	9.130

TABELA 4

Classificação dos sorotipos de Salmonella em sorogrupos

(Continua)

Sorogrupo Total e percentagem das cepas	Sorotipo	N.º de cepas	Sorogrupo Total e percentagem das cepas	Sorotipo	N.º de cepas
A 68 (0,27%)	<i>S. paratyphi</i> A	68	C1 2.570 (10,27%)	<i>S. infantis</i>	1.619
B 17.644 (70,51%)	<i>S. typhimurium</i>	11.985		<i>S. tennessee</i>	251
	<i>S. agona</i>	3.855		<i>S. oranienburg</i>	228
	<i>S. derby</i>	947		<i>S. inganda</i>	156
	<i>S. I 4,12:--:--</i>	137		<i>S. montevidéo</i>	95
	<i>S. bredeney</i>	132		<i>S. lille</i>	90
	<i>S. sandiego</i>	102		<i>S. oslo</i>	42
	<i>S. heidelberg</i>	97		<i>S. I 6,7:--:--</i>	20
	<i>S. saintpaul</i>	95		<i>S. ohio</i>	18
	<i>S. I 4,5,12:i:--</i>	83		<i>S. thompson</i>	15
	<i>S. I 4,12:i:--</i>	41		<i>S. rissen</i>	13
	<i>S. coeln</i>	29		<i>S. mbandaka</i>	6
	<i>S. brandenburg</i>	22		<i>S. I 6,7:--:1,5</i>	4
	<i>S. paratyphi</i> B	19		<i>S. I 6,7:c:--</i>	3
	<i>S. java</i>	19		<i>S. livingstone</i>	3
	<i>S. I 4,12:b:--</i>	17		<i>S. isangi 014+</i>	2
	<i>S. stanleyville</i>	16		<i>S. choleraesuis</i>	2
	<i>S. II sofia</i>	13		<i>S. irumu</i>	1
	<i>S. I 4,5,12:--:--</i>	10	C2 843 (3,37%)	<i>S. makiso</i>	1
	<i>S. I 4,12:--:1,2</i>	5		<i>S. I 6,7:1,v:--</i>	1
	<i>S. I 4,12:--:1,6</i>	4		<i>S. newport</i>	422
	<i>S. indiana</i>	3		<i>S. muenchen</i>	166
	<i>S. gloucester</i>	3		<i>S. quiniela</i>	121
	<i>S. I 4,12:d:--</i>	2		<i>S. glostrup</i>	86
	<i>S. arechavaleta</i>	2		<i>S. bovismorbificans</i>	30
	<i>S. californica</i>	2		<i>S. litchfield</i>	7
	<i>S. reading</i>	1		<i>S. belem</i>	6
	<i>S. schwarzengrund</i>	1		<i>S. manhattan</i>	2
	<i>S. wagenia</i>	1		<i>S. blockley</i>	1
	<i>S. I 4,12:z10:--</i>	1		<i>S. bonariensis</i>	1
				<i>S. I 6,8:--:--</i>	1

CAIZADA, C. T.; NEMÉ, S. N.; IRINO, K.; KANO, E.; DIAS, A. M. G.; FERNANDES, S. A.; VAZ, T. M. I. & PESSOA, G. V. A. — Sorotipos de *Salmonella* identificados no período 1977-1982, no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44 (1): 1-18, 1984.

(conclusão)

Sorogrupo Total e percentagem das cepas	Sorotipo	N.º de cepas	Sorogrupo Total e percentagem das cepas	Sorotipo	N.º de cepas
C3 194 (0,77%)	<i>S. haardt</i>	111	E2 178 (0,71%)	<i>S. london</i>	5
	<i>S. kentucky</i>	71		<i>S. falkensee</i>	2
	<i>S. albany</i>	6		<i>S. I 3,10:1,v:--</i>	2
	<i>S. molade</i>	2		<i>S. elisabethville</i>	1
	<i>S. emek</i>	2		<i>S. I 3,10:r:--</i>	1
	<i>S. I 8:--:--</i>	2		<i>S. newington</i>	132
C4 100 (0,40%)	<i>S. cimsbuettel</i>	89	E3 3 (0,01%)	<i>S. binza</i>	40
	<i>S. bornum</i>	5		<i>S. newbrunswick</i>	2
	<i>S. nienstedten</i>	4		<i>S. halmstad</i>	2
	<i>S. rawash</i>	1		<i>S. cambridge</i>	1
	<i>S. thielallee</i>	1		<i>S. I 3,15:c:--</i>	1
	<i>S. thomasville</i>	3		<i>S. senftenberg</i>	156
D1 1.216 (4,86%)	<i>S. typhi</i>	483	E4 158 (0,64%)	<i>S. tuksony</i>	2
	<i>S. panama</i>	273		F 27 (0,11%)	<i>S. abaetetuba</i>
	<i>S. enteritidis</i>	152	<i>S. rubislaw</i>		6
	<i>S. dublin</i>	116	<i>S. IV 11:z4,z32:--</i>		6
	<i>S. javiana</i>	97	<i>S. marseille</i>		1
	<i>S. I 9,12:--:--</i>	27	G1 36 (0,14%)	<i>S. poona</i>	36
	<i>S. clairbornei</i>	23		G2 170 (0,68%)	<i>S. havana</i>
	<i>S. gallinarum-pullorum</i>	20	<i>S. grumpensis</i>		24
	<i>S. miami</i>	9	<i>S. cubana</i>		21
	<i>S. I 9,12:i:--</i>	5	<i>S. worthington</i>		6
	<i>S. seremban</i>	4	H 20 (0,08%)	<i>S. madelia</i>	18
	<i>S. pensacola</i>	2		<i>S. carrau</i>	2
	<i>S. I 9,12:--:1,5</i>	2	I 48 (0,19%)	<i>S. saphra</i>	36
	<i>S. I 9,12:k:--</i>	2		<i>S. I 16:1,v:--</i>	6
<i>S. portland</i>	1				
E1 1.027 (4,10%)	<i>S. anatum</i>	873			
	<i>S. levington</i>	71			
	<i>S. give</i>	33			
	<i>S. meleagridis</i>	32			
	<i>S. butantan</i>	5			

CAIZADA, C. T.; NEME, S. N.; IRINO, K.; KANO, E.; DIAS, A. M. G.; FERNANDES, S. A.; VAZ, T. M. I. & PESSOA, G. V. A. — Sorotipos de *Salmonella* identificados no período 1977-1982, no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 44(1):1-18, 1984.

	<i>S. IV ochsenzol</i>	3	V			
	<i>S. III 16:z10:e,n,x,z15</i>	2	4 (0,02%)	<i>S. IV 44:g,z51:—</i>	2	
	<i>S. zwickau</i>	1		<i>S. IV 44:z36,z38:—</i>	1	
J				<i>S. vleitun</i>	1	
3 (0,01%)	<i>S. III 17:z4,z23,z32:—</i>	2	X			
	<i>S. I 17:—:—</i>	1	5 (0,02%)	<i>S. bergen</i>	5	
K						
46 (0,18%)	<i>S. cerro</i>	44	Y	<i>S. IV marina</i>	2	
	<i>S. cotia</i>	2	2 (0,01%)			
L						
437 (1,75%)	<i>S. minnesota</i>	436	Z	<i>S. wassenaar</i>	2	
	<i>S. IV soesterberg</i>	1	4 (0,02%)	<i>S. III 50:r:z</i>	2	
M						
50 (0,20%)	<i>S. pomona</i>	50	53	<i>S. IV bockenheim</i>	2	
			3 (0,01%)	<i>S. III 53:z4,z23:—</i>	1	
N						
2 (0,01%)	<i>S. guarapiranga</i>	2	59	<i>S. III 59:—:—</i>	1	
			1 (0,004%)			
O						
5 (0,02%)	<i>S. alachua</i>	3	61	<i>S. III 61:i:z</i>	1	
	<i>S. III 35:1,v:z35</i>	2	3 (0,01%)	<i>S. III 61:i:z53</i>	1	
R				<i>S. III 61:z52:1,5,7</i>	1	
1 (0,004%)	<i>S. IV 40:z4,z32:—</i>	1	65			
			26 (0,1%)	<i>S. III 65:1,v:z35</i>	26	
T						
2 (0,01%)	<i>S. II uphill</i>	2	— (*)			
			124 (0,49%)	<i>Salmonella sp</i>	124	
U						
2 (0,01%)	<i>S. IV 43:z4,z24:—</i>	2				

(*) Cepas rugosas

CAIZADA, C. T.; NEME, S. N.; IRINO, K.; KANO, E.; DIAS, A. M. G.; FERNANDES, S. A.; VAZ, F. M. I. & PESSOA, G. V. A. — Sorotipos de *Salmonella* identificados no período 1977-1982, no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):1-18, 1984.

TABELA 5

Sorotipos e variantes monofásicas atípicas dos subgêneros I, III e IV

Sorotipos e variantes monofásicas	Testes bioquímicos								
	Dulcitol	Lactose	ONPG	Salicina	d - T	Mucato	Malonato	Gelatina	KCN
<i>S. cotia</i>	- (*)	-	-	-	+ (1)	+ (1)	-	-	+ (2)
<i>S. guarapiranga</i>	+ (1)	-	+ (*)	-	+ (3)	- (2)	-	-	-
<i>S. I 3,15:c:-</i>	+ (1)	-	-	-	+ (1)	+ (1)	-	-	+ (2)
<i>S. I 4,12:b:-</i>	- (*)	-	-	-	+ (1)	+ (1)	-	-	+ (2)
<i>S. I 6,7:c:-</i>	+ (1)	-	-	-	+ (1)	+ (1)	-	-	+ (2)
<i>S. I 9,12:m,t:-</i>	- (*)	-	-	-	+ (1)	+ (1)	-	-	+ (2)
<i>S. I 9,12:i:-</i>	+ (1)	-	-	-	- (2)	- (2)	-	-	-
<i>S. I 9,12:z10:-</i>	+ (1)	-	-	-	+ (1)	+ (1)	-	-	+ (2)
<i>S. III 17:z4,z23;z32:-</i>	-	-	- (*)	-	-	- (2)	- (*)	+ (1)	-
<i>S. IV 11:z4,z32:-</i>	-	-	-	- (*)	-	-	-	+ (1)	- (2)

ONPG = Orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo

d - T = d-tartarato

KCN = Meio de cultura contendo cianeto de potássio

S. I = Subgênero I

S. III = Subgênero III

S. IV = Subgênero IV

- = Negativo

- (*) = Negativo, atípico para o subgênero

+ (*) = Positivo, atípico para o subgênero

+ (1) = Positivo em 1 dia

+ (3) = Positivo em 3 dias

CALZADA, C. T.; NEME, S. N.; IRINO, K.; KANO, E.; DIAS, A. M. G.; FERNANDES, S. A.; VAZ, T. M. I. & PESSÔA, G. V. A. — Sorotipos de *Salmonella* identificados no período 1977-1982, no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):1-18, 1984.

TABELA 6

Distribuição anual de isolamentos de S. agona de origem humana

Material	Anos						Total
	1977	1978	1979	1980	1981	1982	
Fezes	109	218	598	523	507	388	2.343
Sangue	2	44	9	2	12	6	75
Líquido cefalorraquidiano	—	1	4	2	2	7	16
Urina	—	—	—	2	—	4	6
Secreções	—	—	1	1	—	2	4
Não especificado	2	11	47	33	15	47	155
Total	113	234	659	563	536	454	2.599

(—) = Não isolada.

TABELA 7

Distribuição anual de isolamentos de S. agona de origem não-humana

Material	Anos						Total
	1977	1978	1979	1980	1981	1982	
Esgoto	418	32	27	233	145	25	880
Praia	271	15	6	—	1	—	293
Estação de tratamento de água	42	2	—	—	—	—	44
Alimento	1	4	6	5	12	15	43
Vísceras de animais	—	8	3	—	—	—	11
Ração para animais	8	—	—	—	—	7	15
Frutos do mar	—	—	—	5	—	—	5
Água de rio	—	—	—	—	3	1	4
Total	740	61	42	243	161	48	1.295

(—) = Não isolada.

RIALA6/566

CALZADA, C. T.; NEME, S. N.; IRINO, K.; KANO, E.; DIAS, A. M. G.; FERNANDES, S. A.; VAZ, T. M. I. & PESSÓA, G. V. A. — *Salmonella* serotypes identified during the period 1977-1982, at Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):1-18, 1984.

ABSTRACT: Serotyping of 25,022 isolates of *Salmonella* sp. from human and non-human sources disclosed 124 serotypes. Of the 15,892 strains of human origin, 82 serotypes were disclosed. *S. typhimurium*, *S. agona* and *S. typhi* prevailed with frequencies of 69.34%, 16.11% and 3.03%, respectively. Of the 9130 isolates from non-human sources, *S. infantis*, *S. agona* and *S. typhimurium* represented 14.23%, 14.18% and 10.58%, respectively, but a total of 103 serotypes were found. Although *S. typhimurium* is the most frequent serotype, *S. agona*, isolated for the first time in 1974 in São Paulo is, at the present time, the second serotype in frequency. The biochemical study of some isolates (mostly from non-human sources) disclosed serotypes and monophasic variants whose atypical biochemical properties differ from classic findings in the classification of the genus *Salmonella* into four subgenera.

DESCRIPTORS: *Salmonella*, serotypes identification; *Salmonella*, serotypes frequency in São Paulo, Brazil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CHERUBIN, C. E. — Antibiotic resistance of *Salmonella* in Europe and the United States. *Rev. infect. Dis.*, 3:1105-26, 1981.
2. DENIS, F.; CHIRON, J. P.; PRINCE-DAVID, M. & MAR, D. — Les salmonelloses en Afrique. Données bactériologiques et épidémiologiques. *Dakar méd.*, 24:1-5, 1979.
3. GLEDEL, J. — Données épidémiologiques relatives aux toxi-infections alimentaires à *Salmonella*. *Med. Malad. infect.*, 8(5):250-61, 1978.
4. IRINO, K.; PESSÓA, G. V. A.; CALZADA, C. T.; MARTINS, M. T. & SANCHEZ, P. S. — Isolamento de três novos sorotipos de *Salmonella*: *S. cotia*, *S. guarapiranga* e *S. arizonae* 65:1,v:z₉₅ de águas de superfície, em São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):53-5, 1981.
5. LE MINOR, L. — Problème mondial des salmonelloses. *Gaz. med. France*, 82:1735-6, 1975.
6. LE MINOR, L. & LE MINOR, S. — Bilan de l'origine et de la répartition des souches reçues au Centre National des *Salmonella* pendant les années 1973 à 1976 (3.^{ème} rapport d'activité). *Rev. Epidém. Santé publ.*, 26:71-96, 1978.
7. LE MINOR, L.; VÉRON, M. & POPOFF, M. — Taxonomie des *Salmonella*. *Ann. Microbiol.*, Paris, 133B:223-43, 1982.
8. PESSÓA, G. V. A.; IRINO, K.; CALZADA, C. T.; MELLES, C. E. A. & KANO, E. — Ocorrência de bactérias enteropatogênicas em São Paulo no septênio 1970-76. I — Sorotipos de *Salmonella* isolados e identificados. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38:87-105, 1978.
9. *Salmonella* surveillance other than *S. typhi* and *paratyphi*. *Wkly. epidem. Rec.*, 50:437-48, 1975.

Recebido para publicação em 21 de junho de 1983.

INIBIDORES MICROBIANOS EM LEITE PASTEURIZADO DO COMÉRCIO DA CIDADE DE SÃO PAULO *

Dilma Scala GELLI **
Miyoko JAKABI **
Aldo de SOUZA **

RIALA6/567

GELLI, D. S.; JAKABI, M. & SOUZA, A. — Inibidores microbianos em leite pasteurizado do comércio da cidade de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44:19-24, 1984.

RESUMO: Foram analisadas 404 amostras de leite pasteurizado, tipos B e Especial no período 1981-1982. Destas, 172 (42,57%) foram positivas para antibióticos e/ou anti-sépticos, como segue: (3,96%) para antibióticos pelo método de difusão em disco e 47 (11,63%) pelo Delvo-teste; 19 (4,70%) para antibióticos e anti-sépticos e 90 (22,28%) para anti-sépticos. Houve redução no teor de antibióticos nas amostras de 1982, em relação às de 1981, considerando a sensibilidade dos microrganismos usados para a sua detecção. Dentre os vários microrganismos usados para a detecção de anti-sépticos, os bacilos gram-negativos foram inibidos com maior frequência, seguidos dos bacilos e cocos gram-positivos. Há, pelos resultados, indicação da utilização de anti-sépticos diversos. Não houve redução da presença desta classe de inibidores durante o período de observação assinalado. Em 73 amostras, realizou-se também o exame bacteriológico. Destas, 21 apresentaram-se de acordo com os padrões legais estabelecidos e livres de substâncias inibidoras. Entre as demais, 28 amostras estavam em desacordo com os padrões microbiológicos, porém livres de inibidores; 5 amostras acusavam a presença de antibióticos e 14, a de anti-sépticos; 5 destas amostras estavam de acordo com os padrões microbiológicos, porém 4 delas continham antibióticos e uma, anti-séptico.

DESCRIPTORIOS: leite, substâncias inibidoras; leite, antibióticos, anti-sépticos, contaminantes microbianos.

INTRODUÇÃO

As substâncias que podem estar presentes no leite de consumo e que exercem ação inibidora sobre microrganismos são, basicamente, as naturais, secretadas pelo próprio animal, as químicas, com ação anti-sética — desinfetante, e as antibióticas e quimioterápicas.

O leite de animais que estão secretando colostro, assim como o leite de retenção, não podem ser aproveitados para fins de alimentação humana^{1,2}, pois estas substâncias exercem ação inibitória, assim como as lacteninas, lactoperoxidasas etc.

Os anti-sépticos podem estar presentes no leite seja como resíduo da lavagem de utensílios e recipientes, ou por acidente tecnológico ou, ainda, pela adição intencional, na tentativa de prolongar e/ou assegurar o tempo de vida do produto¹⁸.

A presença dos antibióticos e/ou quimioterápicos é, em geral, conseqüência do seu uso em clínica e terapêutica veterinárias. Podem ser usados como agentes promotores de crescimento do animal, ou adicionados às rações tanto para a preservação das mesmas como para a referida promoção de crescimento e para tratamento de doenças infecciosas^{4, 6, 7, 8, 11, 15, 16, 17}.

* Realizado na Seção de Microbiologia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

As implicações em Vigilância Sanitária relativas à presença de inibidores, no que se refere aos anti-sépticos, se associa com fraude, uma vez que tem por finalidade prolongar o tempo de vida útil e/ou mascarar a qualidade higiênica do produto, inibindo o desenvolvimento dos contaminantes microbianos presentes. No que se refere aos antibióticos, em especial a penicilina, há a possibilidade de eclosão de fenômenos de hipersensibilidade, tardia ou imediata, nos consumidores alérgicos, previamente sensibilizados. Pode ainda haver indução de sensibilização dos que não tiveram contacto com esta substância. A possível ação seletiva dos microrganismos resistentes aos antibióticos e quimioterápicos, que podem levar à fixação das cepas resistentes, depende da concentração do agente inibidor no leite. Com efeito, para a emergência e fixação destas cepas resistentes, os antibióticos e quimioterápicos devem estar em doses próximas à da concentração mínima inibitória de cada uma das substâncias ^{4, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 19, 20}.

Os métodos laboratoriais para averiguar a presença destas substâncias presentes no leite podem ser químicos ou microbiológicos. Estes últimos não permitem a identificação química das substâncias, apesar de serem os microrganismos indicadores selecionados relativamente sensíveis a cada uma delas. A grande maioria dos anti-sépticos e desinfetantes são volatilizados pela ação do calor, enquanto os antibióticos e quimioterápicos permanecem, o que leva a uma distinção entre estas duas classes de substâncias. No que se refere à penicilina, pode-se evidenciá-la pela adição da penicilinasase que impede a ação desta substância ¹⁷.

O presente trabalho tem por finalidade verificar a incidência de inibidores com ação antibiótica ou anti-séptica presentes em amostras de leite pasteurizado tipos B e Especial, comercializados na cidade de São Paulo, nos anos de 1981 e 1982 e pretende-se associar os resultados destas determinações às de contaminantes microbianos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 404 amostras de leite pasteurizado, sendo 189 do tipo B e 215 do tipo especial (3,2% de gordura), de 19 marcas diferentes comercializadas na cidade de São Paulo.

Microorganismos utilizados nos testes

A seleção dos microrganismos foi baseada em técnicas padronizadas ^{13, 17, 18} nas indicações dos catálogos do "American Type Collection" (Estados Unidos), e do "National Collection of Type Culture" (Inglaterra).

Para a pesquisa de anti-sépticos foram usados: *Bacillus subtilis* ATCC 6633; *Staphy-*

lococcus aureus NCTC H209 *Escherichia coli* ATCC 11313; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 14502; *Klebsiella pneumoniae* NCTC H 204; *Candida albicans* ATCC 10231; *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 e *Aspergillus niger* sem referência de número de coleção.

Para a pesquisa de antibióticos, foram usados: *B. subtilis* ATCC 6633; *Sarcina lutea* ATCC 9341; *S. aureus* ATCC 6538; *S. epidermidis* ATCC 12228; *K. pneumoniae* ATCC 10031 e *B. stearothersophilus* variedade *calidolactis*.

Pesquisa de anti-sépticos

As bactérias selecionadas foram cultivadas sobre ágar nutritivo, inclinado, incubado a 35°C por período máximo de 24 horas, e semeadas, pelo método de estria, usando a agulha em cabo de Kolle, sobre a superfície do ágar em placa, contendo a amostra de leite. Este ágar em placa foi preparado usando-se 10 ml de ágar nutritivo (concentração dupla), fundido e resfriado a aproximadamente 45°C, e a ele foram adicionados 10 ml da amostra sob análise. Para os fungos, procedeu-se da mesma maneira, porém sobre ágar-dextrose batata (concentração dupla) acrescido, nas mesmas proporções, do leite sob análise. Cada amostra foi analisada em duplicata, uma com o leite à temperatura em que foi recebido pelo laboratório (refrigerada) e outra, após exposição do mesmo a 80°C, por 30 minutos. As placas semeadas com bactérias foram incubadas a 35°C, durante 24-48 horas, e as semeadas com fungos, a 22°C, por 5 dias ^{8, 18}. Os controles foram feitos com leite estéril, isento de inibidores, ao qual se adicionou 0,001 ml de formol por ml da amostra.

Pesquisa de antibióticos

As bactérias foram cultivadas em 9 ml de água peptonada a 0,1%, tamponada, incubadas a 35°C por 24 horas, semeadas em ágar Mueller-Hinton, método da sementeira em profundidade, e distribuído em placas, para os testes de difusão. A amostra foi previamente aquecida a 80°C, por 10 minutos e, depois de resfriada, com ela foram impregnados discos de papel, estéreis, tipo Watmann, com 13 mm de diâmetro, indicado para absorção de 0,1 ml do leite ¹⁷. Os discos foram, então, colocados sobre a superfície do ágar já semeado com cada uma das bactérias selecionadas, e incubados a 35°C, por 24-48 horas. Para o Delvo teste, realizado com o *B. stearothersophilus*, usou-se ágar nutritivo com glicose e púrpura de bromocresol, ao qual se acrescentou aproximadamente 10⁴ esporos do bacilo por ml do meio. O ágar foi distribuído, à razão de 1 ml em cada tubo de 12 x 120 mm. Sobre a superfície do ágar em pé, contendo a bactéria indicadora, acrescentou-se 0,1 ml do leite sob análise, previamente aquecido e procedeu-se à incuba-

ção a 58°C, por até 6 horas. Foi acrescentado 0,1 U.I. de penicilinase por ml às amostras de leite positivas para antibiótico, repetindo-se então o teste. Os controles foram feitos com leite estéril, isento de inibidores, ao qual se acrescentou 0,1 U.I. de penicilina por ml.

de bactérias coliformes fecais foi feita a partir dos tubos positivos para o teste de coliformes totais, pela produção de indol em caldo peptonado, incubado a 45°C, durante 24-48 horas¹³.

Determinações bacteriológicas

As amostras de leite diluídas a 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ e 10⁻⁴ foram semeadas em profundidade, em ágar nutritivo, e incubadas a 35°C por 48 horas. A pesquisa de coliformes totais foi feita pelo método de tubos múltiplos (3 tubos para cada alíquota) em caldo lactosado bile-verde-brilhante, usando-se 1,0, 0,1 e 0,01 ml da amostra, com incubação a 35°C por 24-48 horas, e leitura de acordo com tabelas do número mais provável. A pesquisa

RESULTADOS

Para as 404 amostras, foram realizados os testes de pesquisa de anti-sépticos e de antibióticos, método de difusão; o Delvo teste foi feito em 308 amostras correspondentes ao ano de 1982, conforme a tabela 1. A variação dos resultados da pesquisa de antibióticos, de acordo com a inibição de cada bactéria, está expressa na tabela 2. Em 86% das amostras positivas, a inibição foi inativada pela adição de penicilinase.

TABELA 1

Antibióticos e/ou anti-sépticos em leite pasteurizado

Amostras analisadas	Leite tipo B		Total parcial	Leite tipo Especial (com 3,2% de gordura)		Total parcial	Total geral
	Ano 1981	Ano 1982		Ano 1981	Ano 1982		
Negativas	25 (60,97%)	94 (63,51%)	119 (62,96%)	33 (60%)	80 (50%)	113 (52,55%)	232 (57,42%)
Positivas para antibióticos (disco)	5 (12,19%)	1 (0,67%)	6 (3,17%)	11 (20%)	0	11 (5,11%)	17 (4,20%)
Positivas para antibióticos (delvo)	(*)	16 (10,81%)	16	(*)	31 (19,37%)	31	47
Positivas para antibióticos (disco) e anti-sépticos	3 (7,31%)	0	3 (1,58%)	3 (5,45%)	0	3 (1,39%)	6 (1,48%)
Positivas para antibióticos (delvo) e anti-sépticos	(*)	4 (2,70%)	4	(*)	9 (5,62%)	9	13
Positivas para anti-sépticos	8 (19,51%)	34 (22,97%)	42 (22,22%)	8 (14,54%)	40 (25%)	48 (22,32%)	90 (22,27%)
Total	41	148	189	55	160	215	404

(*) Delvo teste não realizado.

TABELA 2

Distribuição das amostras positivas com relação à bactéria teste (método de difusão)

Bactéria teste	Tipo de leite		Total
	B	Especial	
<i>S. lutea</i>	2	3	5
<i>S. lutea</i> <i>B. subtilis</i> <i>S. aureus</i>	1	3	4
<i>S. lutea</i> <i>B. subtilis</i> <i>S. epidermidis</i>	1	—(*)	1
<i>B. subtilis</i> <i>S. aureus</i>	2	1	3
<i>S. lutea</i> <i>S. aureus</i>	—(*)	1	1
<i>S. aureus</i>	—(*)	3	3
Total	6	11	17

(*) Negativa para a bactéria teste.

Os resultados positivos, obtidos para antibióticos associados aos anti-sépticos, foram assim distribuídos: *S. lutea* (antibiótico) com *S. aureus* e *B. subtilis* (anti-séptico); *S. aureus* com *A. niger*; *S. lutea*, *B. subtilis* e *S. aureus* com *S. aureus* (para os leites tipo B); *S. lutea* com *S. aureus*, *B. subtilis* e *E. coli*; *S. lutea* com *B. subtilis* e *A. niger*, *S. lutea*, *B. subtilis* e *S. epidermidis* com *E. coli*, *K. pneumoniae* e *B. subtilis* para o leite Especial. Através do Delvo-teste, a correspondência foi com a *K. pneumoniae* — 2 de leite tipo B e 5 de Especial — num total de 7 amostras.

Os resultados específicos de inibição das cepas selecionadas, para a pesquisa de anti-sépticos, foram: *S. aureus* em 9 amostras; *B. subtilis* em 18; *K. pneumoniae* em 9; *K. pneumoniae* e *B. subtilis*, com ou sem inibição de outros, exclusiva o *S. aureus* em 10, e outros, exclusive os citados nominalmente, em 3 amostras, para o leite tipo B. Para o leite tipo Especial, encontramos inibição de *S. aureus* em 8 amostras, *B. subtilis* em 18, *B. subtilis* e *K. pneumoniae* e outros, exclusive o *S. aureus* em 11, *A. niger* e *S. cerevisiae* em 1 e para os demais, exclusive os citados, em 4 amostras.

A pesquisa de presença de microrganismos foi realizada em 73 amostras de leite tipo B, no ano de 1982. Para a caracterização destes dados, consideraram-se os limites tolerados para esta classe de produto, constante da Resolução n.º 13/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos, Mi-

nistério da Saúde (contagem padrão em placas, máximo 4 x 10⁴/ml; coliformes totais, máximo 2/ml e coliformes fecais, ausência em 1 ml). Das amostras analisadas, 21 (28,77%) se apresentavam dentro dos padrões estabelecidos e isentas de antibióticos e anti-sépticos; 5 (6,85%), positivas para antibióticos pelo Delvo teste e em desacordo com os padrões, sendo que 1 amostra (1,37%) revelou presença de coliformes fecais; 14 (19,18%), em desacordo com os padrões e contendo anti-sépticos, sendo 7 (9,59%) com coliformes fecais; 28 (38,35%), isenta de antibióticos e anti-sépticos porém em desacordo com os padrões, e, dentre elas, 8 (10,95%) com fecais; 4 (5,48%) das amostras foram positivas para presença de antibióticos pelo Delvo teste e 1 (1,37%) para a presença de anti-sépticos, estas últimas com resultados microbiológicos abaixo dos limites tolerados pelo padrão legal.

DISCUSSÃO

A tabela 1 mostra uma diminuição acentuada de número de amostras positivas para antibióticos, pelo método de difusão. Este é um dado de importância, uma vez que a sensibilidade das bactérias está em função da natureza e quantidade desta classe de substâncias inibidoras. *B. subtilis* é inibido por concentrações iguais ou maiores do que 0,005 U.I. de penicilina por ml de leite, enquanto *S. lutea* o é em concentrações de 0,05 U.I. e *B. stearothermophilus*, pelo Delvo-teste, em

0,0025 U.I. deste antibiótico^{9, 10, 13, 17}. Considerando a tabela 2, 4 amostras do leite tipo B e 4 do tipo especial continham o equivalente de, pelo menos, 0,05 U.I. de penicilina por ml da amostra e 2 do tipo B e 1 do tipo Especial, entre 0,05 e 0,005 U.I. deste antibiótico.

Entretanto, é necessário assinalar que em trabalhos experimentais não há 100% de concordância com as correspondências acima referidas, isto é, quando da adição destas concentrações de penicilina em leite, as concentrações mínimas assinaladas são detectadas por este método, porém ocorrem também reações falso-negativas. No caso do Delvo-teste, há indicações da ocorrência de reações falso-positivas^{3, 4, 10, 12, 14}. Nas amostras de leite analisadas, há predominância da presença da penicilina, pela percentagem de amostras com inibição da ação quando da adição da penicilinase.

Ainda pela tabela 1, no que se refere à presença de substâncias inibidoras inativadas pelo calor, utilizando o método para anti-sépticos, conclui-se que não há alteração significativa dos percentuais de positividade entre os anos de 1981 e 1982, mas só flutuações. Pela associação dos resultados com os microrganismos usados, há indicação da presença de mais do que uma substância, sem critério de escolha, pois inibem gram-positivos, gram-negativos e fungos. É interessante observar que as amostras de uma única procedência inibiram sistemática e exclusivamente a *K. pneumoniae*, indicando a presença de um inibidor específico neste período de observação, associada àquela marca.

Pelos dados das determinações microbiológicas, observa-se que a presença de contaminantes microbianos independente da presença dos inibidores, nas amostras analisadas. Pelo

contrário, em 50% das amostras com anti-sépticos, observou-se também a presença dos coliformes fecais, enquanto nas amostras sem inibidores, a positividade para este grupo de microrganismos foi de 22,4%. Considerando também este dado, questiona-se a necessidade e eficiência destes inibidores. Entretanto, não é possível, pelo método microbiológico, determinar a natureza química destes anti-sépticos.

CONCLUSÕES

Os dados obtidos no presente trabalho permitem concluir que, dentre os inibidores microbianos presentes no leite pasteurizado comercializado em São Paulo, os que são inativados pelo calor estão presentes com maior frequência. Com relação àqueles com atividade antibiótica, houve uma redução marcante de 1981 para 1982. A presença dos inibidores termolábeis não está relacionada com a melhoria da qualidade microbiológica do leite, e é feita sem critério. Nas concentrações dos antibióticos detectados, considerando a sensibilidade dos microrganismos usados (de 0,0025 a 0,05 U.I. de penicilina/ml) e a inativação pela adição de 0,1 U.I. de penicilinase/ml, o risco potencial está associado a fenômenos de hipersensibilidade nos consumidores alérgicos previamente sensibilizados, sendo que o risco de emergência e fixação de bactérias resistentes é pouco provável^{5, 6, 7, 10, 14, 15, 16}.

É necessário que se avalie a natureza química dos inibidores presentes e é fundamental, para assegurar a saúde pública, que se somem os esforços dos órgãos inspetores, fiscalizadores e dos produtores, para se alcançarem os objetivos comuns de expor ao consumo um produto de qualidade higiênica adequada.

RIALA6/567

GELLI, D. S.; JAKABI, M. & SOUZA, A. — Microbe inhibitors in pasteurized milk sold in São Paulo City, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44:19-24, 1984.

ABSTRACT: A search for the presence of antibiotics and/or antiseptic compounds was made in 404 samples of type B or "Special" pasteurized milk sold in São Paulo City in 1981 and 1982. The presence of antibiotics and/or antiseptics was disclosed in 172 samples (42.57%). Of these, 16 (3.96%) were positive for antibiotics by disc diffusion and 47 (11.63%) by Delvo-test; 19 samples (4.70%) were positive for antibiotics and antiseptics and 90 (22.28%) for antiseptics. The antibiotic level was lower in the samples collected in 1982 compared with 1981, having in consideration the sensitivity of the microorganisms employed in the tests. Gram-negative bacilli were more frequently inhibited by antiseptics, followed by Gram-positive bacilli and Gram-positive cocci. No reduction in the levels of antiseptics was noted. A bacteriologic examination of 73 samples was also made. Of these, 21 met the legal requirements and were free of microbe inhibitors. Of the remaining samples, 28 did not meet the microbiological standards but were free of inhibitors, 5 showed the presence of antibiotics and 14 showed antiseptics. Five samples met the microbiological standards but 4 of them contained antibiotics and 1, antiseptics.

DESCRIPTORS: milk, inhibiting substances; milk, antibiotics, antiseptics, microbial contaminants.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARROS, V. R. M. & FERCHES, E. M. C. — Pesquisa de inibidores no leite tipo "B", distribuído ao consumo da Grande São Paulo. *Rev. Inst. Lat. Cândido Tostes*, 36: 39-42, 1981.
2. BRASIL, Leis, decretos etc. — Decreto n.º 30.691, de 29 de março de 1952. *Diário Oficial*, Brasília, 7 jul. 1952. Seção 1, p. 10802. [Art. 478 e 479]. Aprova o novo Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, que com ele baixa assinado ...
3. FAGUNDES, C. M.; SANTOS, E. C. & RODRIGUES, R. — Prevalência de antibióticos no leite tipo B e C consumido em Belo Horizonte, 1978. *Arq. Esc. vet. Univ. M. Gerais*, 34:203-6, 1982.
4. FRANÇOIS, M. A. C. — L'utilisation des antibiotiques en alimentation animale. *Bull. Acad. natl. Méd. (Paris)*, 150:13-23, 1966.
5. GOUNELLE, H. & SZAKUARY, A. — Antibiotiques et aliments. IV — L'utilisation des antibiotiques hors de la prescription médicale. *Bull. Acad. Natl. Méd.*, 150:149-56, 1966.
6. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS — *Microbial ecology of foods*. v. 1: *factors affecting life and death of microorganisms*. New York, Academic press., 1980. p. 160-9.
7. JUKES, T. H. — Public health significance of feeding cow levels of antibiotics to animals. *Adv. appl. Microbiol.*, 16:1-30, 1973.
8. KOSIKOWSKY, F. V.; HENNINGSON, R. W. & SILVERMAN, G. J. — The incidence of antibiotics, sulfa drugs and quaternary ammonium compounds in the fluid milk supply of New York State. *J. dairy Sci.*, 35:533-9, 1952.
9. MACAULY, D. M. & PACKARD, V. S. — Evaluation of methods used to detect antibiotic residues in milk. *J. Food protect.*, 44:696-8, 1981.
10. MARTH, E. H. & ELLICKSON, B. E. — Antibiotic residues in milk products — A review. *J. Milk Food Technol.*, 22:241-9, 1959.
11. MELLO FILHO, A. — Penicilina no leite de consumo da cidade de São Paulo e risco de sensibilização. *Rev. paul. Med.*, 75:21-34, 1969.
12. MELLO FILHO, A.; SANDOVAL, L. A.; RODRIGUES, N. R. & XIMENES, J. — Inibidores bacterianos no leite de consumo da Capital. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 25:27: 69-93, 1965/67.
13. MESSER, J. W.; CLAYPOOL, L. L.; HOUGHTBY, G. A.; MIKOLAJCIK, E. M. & SING, E. L. — Detection of antibiotic residues in milk and dairy products. In: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, ed. Elmer H. Marth — *Standard methods for the examination of dairy products*. 14th ed. Washington, D.C., APHA, 1978. p. 141-50.
14. OLSON, J. C., Jr. & SANDERS, A. C. — Penicillin in milk and milk products: some regulatory and public health considerations. *J. Milk Food Technol.*, 38:630-3, 1975.
15. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ — *Questions de santé publique posés par l'introduction d'antibiotiques dans les aliments de l'homme et de animaux domestiques*. Rapport d'un Comité d'Experts, Genève, 1962. Genève, OMS, 1963. [Sér. Rapp. techn. n.º 260]
16. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ — *La surveillance, moyen de prévenir et de réduire les risques pour la santé associés aux entérobactéries antibiorésistantes*. Rapport d'une réunion de l'OMS, Genève, 1977. Genève, OMS, 1978. [Sér. Rapp. techn. n.º 624]
17. SERRES, L.; AMARIGLIO, S. & PETRANSXIENE, D. — *Controle de la qualité des produits laitiers*. [Issy-les-Moulineaux, Direction des Services Vétérinaires, 1973] Chap. IV-A (Microb.), p. 1-7.
18. Ibid. Chap. IV-B (Microb.), p. 1-6.
19. VAN SCHTHORST, M. & PEELEN-KNOL, G. — Detection and identification of some antibiotics in slaughter animals. *Neth. J. vet. Sci.*, 3:85-93, 1970.
20. WICHER, K.; REISMAN, R. E. & ARBESMAN, C. E. — Allergic reactions to penicillin present in milk. *J. Amer. med. Assoc.*, 208:143-5, 1969.

Recebido para publicação em 5 de julho de 1983.

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-CYSTICERCUS CELLULOSAE EM
POPULAÇÃO DE RISCO PARA CISTICERCOSE E EM SEGMENTO DE
POPULAÇÃO CONSIDERADO SUPOSTAMENTE NORMAL, EM REGIÕES
DO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL *

Mirthes UEDA **
Paulo M. NAKAMURA **
Eliseu A. WALDMAN **
Pedro Paulo CHIEFFI **
Ana Maria Carvalho de SOUZA **
Marlene SPIR **
Laércio J. GERBI **

RIALA6/568

UEDA, M.; NAKAMURA, P. M.; WALDMAN, E. A.; CHIEFFI, P. P.; SOUZA, A. M. C.; SPIR, M. & GERBI, L. J. — Freqüência de anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae* em população de risco para cisticercose e em segmento de população considerado supostamente normal, em regiões do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):25-28, 1984.

RESUMO: Examinaram-se, através de reação de fixação de complemento, os soros de 234 pacientes internados em hospital psiquiátrico localizado no município de Presidente Prudente, considerados de risco para infecção cisticercótica, além de 454 soros de gestantes procedentes da Região Administrativa de Santos e 397 soros de indivíduos considerados supostamente normais, procedentes da Região Administrativa de Presidente Prudente. O antígeno utilizado na reação de fixação de complemento foi obtido através de extração metilica, à temperatura ambiente, dos cisticercos tratados com acetona. Consideraram-se positivas as reações em que ocorreu fixação de complemento a partir da diluição 1:2. Dos 1.085 soros testados, 27 apresentaram atividade anticomplementar e 17 (1,6%) mostraram-se reagentes. Todavia, quando se consideraram, separadamente, os grupos procedentes de Santos, Presidente Prudente e os doentes mentais, percebe-se diferença significativa nos resultados: assim, os índices de freqüência foram, respectivamente, 0,88% e 1,00% para os indivíduos procedentes de Santos e Presidente Prudente e considerados supostamente normais e 3,8% para os doentes mentais. Os resultados indicam que não é desprezível a ocorrência de anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae* em nosso meio, especialmente entre pacientes de hospitais psiquiátricos.

DESCRITORES: Cisticercose, *Taenia solium*, *Cysticercus cellulosae*; anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae* em doentes mentais e em população normal.

INTRODUÇÃO

A cisticercose é importante problema médico, sanitário e veterinário nas regiões onde *Taenia solium* é prevalente. Sua ocorrência é predominante nos países subdesenvolvidos, onde as condições higiênico-sociais são pre-

cárias. É considerada endêmica na China, Índia, Romênia, Polônia e América Latina. Neste continente, há maior freqüência em certas regiões do Brasil, Peru, Chile e México¹⁴.

A cisticercose no homem é causada exclusivamente pelos embriões de *Taenia solium*

* Realizado na seção de Sorologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

que podem se instalar em diversos tecidos onde, após 3 ou 4 meses sofrem transformação cística, correspondendo ao desenvolvimento da forma larvária, conhecida como *Cysticercus cellulosae*. Na forma humana da cisticercose, os embriões têm predileção especial pelo sistema nervoso central, podendo localizar-se também no globo ocular, leptomeninges, tecido subcutâneo e tecido conjuntivo intrafascicular dos músculos estriados.

Para detectar a presença de anticorpos contra cisticercos diversas técnicas sorológicas foram elaboradas. A reação de fixação de complemento foi uma das primeiras provas idealizadas¹⁵, com a demonstração de anticorpos anticisticercos no soro sanguíneo e no líquido cefalorraquidiano de pacientes com cisticercose generalizada⁶. A partir de 1935, a reação de fixação de complemento passou a ser realizada rotineiramente no líquido dos pacientes, para o diagnóstico de neurocisticercose⁴.

Nas últimas décadas, diversos estudos sobre o diagnóstico imunológico da cisticercose e sua ocorrência têm sido realizados. No Brasil, destacam-se os trabalhos de SPINA-FRANÇA^{11, 12, 13, 14} e de REIS *et alii*^{7, 8, 9, 10}. Há, entretanto, escassez de dados relacionados à freqüência de anticorpos anticisticercos na população de características normais.

O objetivo do presente trabalho é determinar o nível de anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae* em um segmento populacional admitido como normal e em um grupo de pacientes internados em hospital para doentes mentais, considerado de risco para cisticercose.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram submetidos a análise por reação de fixação de complemento (RFC) para detecção de anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae* 1.085

soros, dos quais 234 pertencentes a pacientes do sexo masculino e de idade variável entre 15 a 64 anos, internados no Hospital Psiquiátrico Bezerra de Menezes localizado no município de Presidente Prudente (SP), além de 454 soros de gestantes de faixa etária compreendida entre 14 e 43 anos, provenientes da Região Administrativa de Santos (SP) e 397 soros de indivíduos de ambos os sexos e de idade variável entre 4 e 78 anos e procedentes da Região Administrativa de Presidente Prudente. As gestantes da Região Administrativa de Santos foram tomadas como parâmetro para averiguação de possíveis diferenças regionais na freqüência de anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae*.

A reação de fixação de complemento foi efetuada empregando-se extrato metílico de cisticercos tratados previamente com acetona. A dose ótima de antígeno foi determinada por dosagem em bloco, utilizando-se a técnica de KOLMER modificada¹.

Os soros foram testados em diluições seriadas de log₂ e considerados reagentes a partir da diluição 1:2.

Para testar a especificidade da RFC para cisticercose, em 688 das 1.085 amostras de soro realizaram-se testes sorológicos para o diagnóstico da sífilis: teste de flocação (V.D.R.L.) e imunofluorescência indireta (FTA-ABS).

Para análise estatística dos dados utilizou-se o teste de qui-quadrado (χ^2).

RESULTADOS

Entre os 1.085 soros examinados, 27 apresentaram atividade anticomplementar, sendo excluídos da análise. Dos restantes, 17 (1,6%) revelaram a presença de anticorpos anti-*Cysticercus cellulosae* em níveis considerados significantes. A tabela abaixo sumariza os resultados obtidos neste estudo.

TABELA

Reatividade de soros de indivíduos de risco para cisticercose (doentes mentais) e de segmento considerado supostamente normal da população, quando submetidos a RFC para cisticercose

Grupos populacionais	RFC para cisticercose		Total
	Reagente	Não reagente	
Doentes mentais	9 (3,80%)	225 (96,20%)	234
Indivíduos normais	8 (0,87%)	816 (99,03%)	824*

* Foram excluídos 27 soros que apresentaram atividade anticomplementar.

$\chi^2 = 9,73$ (significante para $p = 0,01$)

DISCUSSÃO

A RFC em casos de neurocisticercose, quando realizada no soro sanguíneo, apresenta sensibilidade relativamente baixa, detectando entre 60 e 70% dos casos^{2,5}. É considerada, no entanto, uma reação útil na confirmação etiológica da doença, em pacientes com sintomatologia sugestiva³.

Com relação à especificidade, não se conhecem ressalvas à utilização da RFC para cisticercose, fato que os dados obtidos no presente trabalho corroboram.

O uso deste tipo de reação em inquéritos sorológicos, portanto, pode ser objeto de críticas no sentido de que a prevalência revelada apresenta, na realidade, um valor subestimado sem, contudo, revelar resultados falso-positivos.

Por outro lado, o emprego da técnica de Kolmer modificada¹ na feitura da RFC melhora sua sensibilidade e especificidade, tornando-a comparável a outras técnicas mais sofisticadas de imunodiagnóstico, como a de hemólise CH₅₀. Nestas circunstâncias, justifica-se seu emprego como teste em inquérito sorológico.

Ao se examinarem os resultados nos dois grupos em que os indivíduos encontravam-se divididos, notou-se que entre os pacientes internados em hospital para doentes mentais, 9 (3,8%) mostravam-se positivos, enquanto no caso dos demais indivíduos apenas 8 (0,97%) apresentaram soros reagentes. Quando este último grupo é subdividido conforme a procedência dos indivíduos que o compõe, nota-se que praticamente não há diferença entre as frequências de soros reagentes entre os indivíduos procedentes de Santos e Presidente Prudente, que apresentaram frequências de anticorpos anticisticercose em 0,88% e 1,00% dos casos, respectivamente.

Os resultados obtidos ressaltam a importância da cisticercose como agravo à população humana no Estado de São Paulo. O encontro de cerca de 1,00% de soros reagentes no grupo de indivíduos normais, procedentes de Santos e Presidente Prudente, chama a atenção para a possibilidade de taxas semelhantes ocorrerem na população do Estado. Paralelamente, a frequência significativamente mais elevada de infecção entre os pacientes de hospital para doentes mentais confirma o maior risco de transmissão nestes indivíduos. Estes dados não diferem substancialmente dos referidos por outros autores em nosso meio e revistos por CANELAS², em 1962.

RIALA6/568

UEDA, M.; NAKAMURA, P. M.; WALDMAN, E. A.; CHIEFFI, P. P.; SOUZA, A. M. C.; SPIR, M. & GERBI, L. J. — Frequency of anti-*Cysticercus cellulosae* antibodies in high risk population for cysticercosis and in a segment considered as normal population, in areas of São Paulo State, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44:25-28, 1984.

ABSTRACT: By means of complement fixation test, 234 sera from patients admitted to a psychiatric hospital, located in Presidente Prudente municipality, who were considered as high risk population for cysticercosis infection, and 454 sera from pregnant proceeding from Santos municipality, and also 397 sera from individuals of both sexes, proceeding from Presidente Prudente were analysed. The methanol extract of *Cysticercus* was employed for complement fixation test. It is estimated as positive the reaction which presented reactive complement fixation as from dilution 1:2. Twenty seven of the 1,085 samples examined presented anticomplementary activity. Among 1,085 sera, 17 (1,60%) were reactive; however, when the normal individual groups and the mental patients group were analysed separately, it was observed significant difference in the results. Therefore, among 824 normal individuals, 8 (0,97%) sera showed as reactive and among 234 sera from mental patients, 9 (3,8%) were reactive. The results gave evidence of the occurrence of anti-*Cysticercus cellulosae* antibodies in individuals from São Paulo State, mainly among psychiatric patients, in significant levels.

DESCRIPTORS: Cysticercosis, *Taenia solium*, *Cysticercus cellulosae*; anti-*Cysticercus cellulosae* antibodies in psychiatric patients, and in normal population.

UEDA, M.; NAKAMURA, P. M.; WALDMAN, E. A.; CHIEFFI, P. P.; SOUZA, A. M. C.; SPIR, M. & GERBI, L. J. — Frequência de anticorpos anti-*cysticercus* em população de risco para cisticercose e em segmento de população considerado supostamente normal, em regiões do Estado de São Paulo, Brasil, *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):25-28, 1984.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARACCHINI, O. & BRITTO E SILVA, M. — Emprego de técnica de Kolmer, modificada, na fixação de complemento, usando antígeno metílico de *Trypanosoma cruzi* no diagnóstico da doença de Chagas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 29/30:73-9, 1969/70.
2. CANELAS, H. M. — Neurocisticercose: incidência, diagnóstico e formas clínicas. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo), 20:1-30, 1962.
3. LAMAS, E.; ESTEVES, J.; SOTO, M. & OBRADOR, S. — Computerized axial tomography for the diagnosis of cerebral cysticercosis. *Acta. Neurochir.*, 44:197-205, 1978.
4. LANGE, O. — O líquido cephalo-rachidiano na cisticercose do systema nervoso central. *Rev. Neurol. Psiquiat. São Paulo*, 1: 421-34, 1935.
5. MACHADO, J. J. — *Forma hipertensiva da neurocisticercose. Tratamento cirúrgico.* São Paulo, 1980. [Tese — Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo]
6. MOSES, A. — Dos métodos biológicos de diagnóstico nas cisticercoses. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 3:320-7, 1911.
7. REIS, J. B. & BEI, A. — A reação de fixação de complemento para diagnóstico de sífilis e de cisticercose no líquido cefalorraquidiano pela técnica de Waldsworth, Maltaner & Maltaner. *Rev. paul. Med.*, 53: 439-78, 1958.
8. REIS, J. B.; BEI, A. & REIS FILHO, J. B. — Nossa experiência com reação de fixação de complemento pela técnica de Waldsworth, Maltaner & Maltaner adaptada ao líquido cefalorraquidiano para o diagnóstico de sífilis e de cisticercose. *Rev. paul. Med.*, 62:118-24, 1963.
9. REIS, J. B.; BEI, A.; REIS FILHO, J. B. & NASSER, J. — Líquido cefalorraquidiano na cisticercose encefálica. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo), 37:113-25, 1979.
10. REIS, J. B.; PIMENTA, A. M. & PUPO, P. — Cerebrospinal fluid in the diagnosis of the brain cysticercosis. *Neurol. Psiquiat. Neurochir.*, 9:175-6, 1964.
11. SPINA-FRANÇA, A. — Cisticercose do sistema nervoso central. Considerações sobre 50 casos. *Rev. paul. Med.*, 48:59-70, 1956.
12. SPINA-FRANÇA, A. — Síndrome liquórica da neurocisticercose. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo), 19:307-14, 1961.
13. SPINA-FRANÇA, A. — Aspectos biológicos da neurocisticercose. Alterações no líquido cefalorraquidiano. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo), 20:17-30, 1962.
14. SPINA-FRANÇA, A. — Imunobiologia da cisticercose: avaliação dos conceitos atuais. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo), 27:125-40, 1969.
15. WEINBERG, M. — Recherches des anticorps spécifiques dans la distomatose et la cisticercose. *C. r. Séanc. Soc. Biol.* 66:219-221, 1909.

Recebido para publicação em 18 de julho de 1988.

LINFÓCITOS T, B NO SANGUE PERIFÉRICO DE DOENTES COM HEPATITE AGUDA *

Adele Caterino de ARAÚJO **
Irene Walter de FREITAS **
Augusta Kiyomi TAKEDA **

RIALA6/569

ARAÚJO, A. C.; FREITAS, I. W. & TAKEDA, A. K. — Linfócitos T, B no sangue periférico de doentes com hepatite aguda. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44:29-33, 1984.

RESUMO: Foi determinado o número de linfócitos T, B e linfócitos T, formadores de roseta estável, a 37 °C, num grupo de 140 doentes com diagnóstico clínico e laboratorial de hepatite aguda, atendidos no ambulatório do Hospital Emílio Ribas, São Paulo-SP, Brasil, no período de outubro de 1981 a maio de 1982. As provas sorológicas para pesquisa de antígenos e/ou de anticorpos para os vírus da hepatite A e B revelaram que 37,8% dos doentes apresentavam hepatite A, 50,7% dos doentes, hepatite B, e 11,5%, sorologia negativa para os vírus da hepatite A e B, tendo sido classificados como portadores de hepatite de causa indeterminada. O número de linfócitos nesses doentes foi determinado no dia do diagnóstico clínico, após 60 e 360 dias. Quanto ao número de linfócitos T, estes se mostraram aumentados na maioria dos doentes, durante todo o estudo, retornando a valores normais após 60 e 360 dias apenas nos doentes com hepatite de causa indeterminada. Em relação aos linfócitos B, estes estavam normais na maioria dos doentes, independentemente da época e tipo de hepatite. Para os linfócitos T, formadores de roseta estável, a 37 °C, não ocorreram variações significativas na maioria dos doentes, durante todo o estudo. A tentativa de se correlacionarem níveis de linfócitos com tipo e forma de hepatite é discutida no trabalho.

DESCRITORES: hepatites; hepatites A, B; linfócitos B, T na hepatite, frequência.

INTRODUÇÃO

A hepatite, sendo uma doença infecciosa, tem merecido atenção especial das autoridades sanitárias do País. Vários surtos epidêmicos têm ocorrido em creches, escolas, quartéis e até mesmo em cidades. Outros setores que sofrem conseqüências dessa doença são as unidades de hemodiálise e os bancos de sangue. Dentre as vias de contaminação, sabemos que, além da transmissão fecal-oral e parenteral, ocorre também transmissão materno-fetal e sexual.

Dependendo do vírus que infecta o organismo hospedeiro, RNA ou DNA, teremos os

dois tipos mais comuns de hepatite, A ou B. Outro tipo de hepatite muito estudado tem sido o da hepatite não A, não B, onde não são encontrados marcadores sorológicos nem para o vírus da hepatite A nem para o vírus da hepatite B, e onde se descarta também a possibilidade de ser uma hepatite por citomegalovírus, Epstein-Barr vírus, ou mesmo por droga.

Os mecanismos envolvidos na imunopatogênese dos vários tipos de hepatite têm sido estudados, sendo que na hepatite A não se discutem muitos detalhes, por apresentar ela geralmente evolução rápida, com bom prognóstico, e desenvolver anticorpos protetores.

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

Em 1972, DUDDLEY *et alii*⁸ conseguiram propor um modelo para explicar as várias formas da hepatite B: portadores assintomáticos, portadores de hepatite B aguda, portadores de hepatite B crônica, e hepatite B fulminante, correlacionando fatores de virulência do vírus da hepatite B e os mecanismos de defesa do hospedeiro, frente a tal invasão.

Segundo CHISARI *et alii*⁴, o vírus da hepatite B não é citopático para o hepatócito infectado. Os antígenos envolvidos na imunopatogênese desse tipo de hepatite seriam o antígeno HBs e o antígeno lipopolissacarídeo. Os mecanismos de imunidade celular e humoral seriam os responsáveis pelas lesões que ocorrem no fígado, sendo que o linfócito T ou a própria célula K desenvolveriam a função de célula destruidora, através da liberação de linfocinas ou por mecanismos de citotoxicidade (DUDDLEY *et alii*⁸).

GALILI *et alii*⁹ observaram que dentre as diferentes subpopulações de linfócitos T havia uma subpopulação capaz de formar rosetas E, estáveis a 37°C, e que desempenhava atividade supressora. Dessa forma, verificou-se que em doentes portadores de hepatite B essa subpopulação de linfócitos era importante na evolução para a cura ou cronicidade.

Baseados nessas informações, nesse trabalho foi feito um estudo seqüencial de 140 doentes com hepatite aguda, com a finalidade de se determinar o número de linfócitos imunologicamente competentes B, T, e T formadores de roseta E, estável a 37°C, nos vários tipos: hepatite A, hepatite B e hepatite de causa indeterminada, nas formas aguda e crônica.

MATERIAL E MÉTODOS

Dentre os doentes que procuraram o ambulatório do Hospital Emílio Ribas, São Paulo, SP, Brasil, no período de outubro de 1981 a maio de 1982, com suspeita de hepatite, 140 com diagnóstico clínico e laboratorial característico de hepatite aguda foram selecionados para o estudo.

O diagnóstico da hepatite B foi feito pela detecção do antígeno HBs no soro, através da técnica de radioimunoensaio em fase sólida e da reação de hemaglutinação passiva reversa, e pela detecção de anticorpos IgG anti-HBc, por radioimunoensaio*.

Para o diagnóstico da hepatite A foram pesquisados anticorpos IgM no soro, pela técnica de radioimunoensaio**.

Quando os marcadores sorológicos acima citados não foram encontrados nos doentes estudados, estes foram qualificados como portadores de hepatite de causa indeterminada. Para estes não foram pesquisados citomegalovírus e Epstein-Barr vírus.

Amostras heparinizadas de sangue foram colhidas no dia do diagnóstico clínico e após

60 e 360 dias, e usadas para a contagem de leucócitos totais, contagem específica de leucócitos, contagem de linfócitos T e B, e contagem de linfócitos T formadores de roseta E, estável a 37°C.

Para a determinação do número de linfócitos T e B foi usada a técnica da roseta conjunta E-Zymosan-Complemento, segundo KAJADACSY-BALLA & MENDES¹¹ & CAMPBELL *et alii*³, adaptada pelo Laboratório de Imunologia do Instituto Adolfo Lutz.

Após a separação das células mononucleares em gradiente de densidade de Ficoll-Hypaque, densidade 1.076 segundo BOYUM² as células foram ajustadas à concentração de 3×10^6 cel./ml de solução salina tamponada de Hanks, e a elas adicionadas hemácias de carneiro e complexo ativado Zymosan-complemento. A leitura foi feita após incubação por 18 horas, a 4°C, pela contagem de 100 células, considerando-se linfócitos T aqueles que apresentaram três ou mais hemácias de carneiro aderidas a sua superfície, e linfócitos B, aqueles que apresentaram três ou mais partículas de Zymosan aderidas. Os valores finais resultaram da média de três contagens de cada preparação, e foram expressos em números absolutos calculados a partir dos resultados do leucograma.

Foram considerados valores normais para linfócitos T aqueles compreendidos entre 500 — 1.400 linfócitos/mm³ de sangue e, para linfócitos B, os compreendidos entre 85 — 346 linfócitos/mm³ de sangue.

A contagem de linfócitos T formadores de roseta E, estável a 37°C, por 30 minutos, feita segundo GALILI *et alii*¹⁰, foi expressa em porcentagem de linfócitos com três ou mais hemácias de carneiro, aderidas à sua superfície.

Foram considerados valores normais aqueles que não excederam 10%, segundo WANSBROUGH-JONES *et alii*¹³.

RESULTADOS

Nos 140 doentes estudados, em 53 (37,8%) deles foram encontrados os marcadores sorológicos para hepatite A, em 71 (50,7%) foram encontrados marcadores para hepatite B, e em 16 (11,5%) não foram encontrados marcadores sorológicos para hepatite A ou B.

A porcentagem de retorno dos doentes para repetição dos testes e acompanhamento clínico, feito após 60 e 360 dias do diagnóstico, foi de 72,85% e 37,85%, respectivamente.

A figura 1 mostra a distribuição das hepatite A (HAV), B (HBV), e indeterminada (HI), segundo a idade, onde 74,1% dos doentes com idade inferior a 15 anos apresentaram hepatite pelo vírus A. Para as hepa-

* Conjunto de reagentes CORAB, Abbott Lab., North Chicago, Ill., E.U.A.

** Conjunto de reagentes HAVAB — M, Abbott Lab., North Chicago, Ill., E.U.A.

tites B (HBV), e de causa indeterminada (HI), 97,2% e 93,7% dos doentes, respectivamente, tinham idade superior a 16 anos.

As variações no número de linfócitos T, B, e linfócitos T formadores de roseta E estável são apresentadas na figura 2.

Quanto ao número de linfócitos T, estes estavam aumentados na HAV, HBV e HI, em respectivamente 71,7%, 57,7% e 62,5% dos doentes no dia do diagnóstico. Após 60 dias, os linfócitos T permaneceram aumentados em 77,5%, 63,5% e 30,5% dos doentes e, aos 360 dias do diagnóstico, continuavam aumentados em 62,5% dos doentes com HAV, 57,1%

dos doentes com HBV e 33,3% dos doentes com HI.

Em apenas 4,3% dos doentes com HBV no dia do diagnóstico, e em 2,5% e 3,8% dos doentes com HAV e HBV após 60 dias do diagnóstico foram encontrados números de linfócitos T diminuídos.

Os linfócitos B estavam em número normal em 53,3% dos doentes com hepatite A, em 75,5% dos doentes com hepatite B, e em 83,3% dos doentes com hepatite de causa indeterminada. Estes linfócitos estavam em número diminuído em 8,9% na HAV e 9,8% na HBV, no dia do diagnóstico.

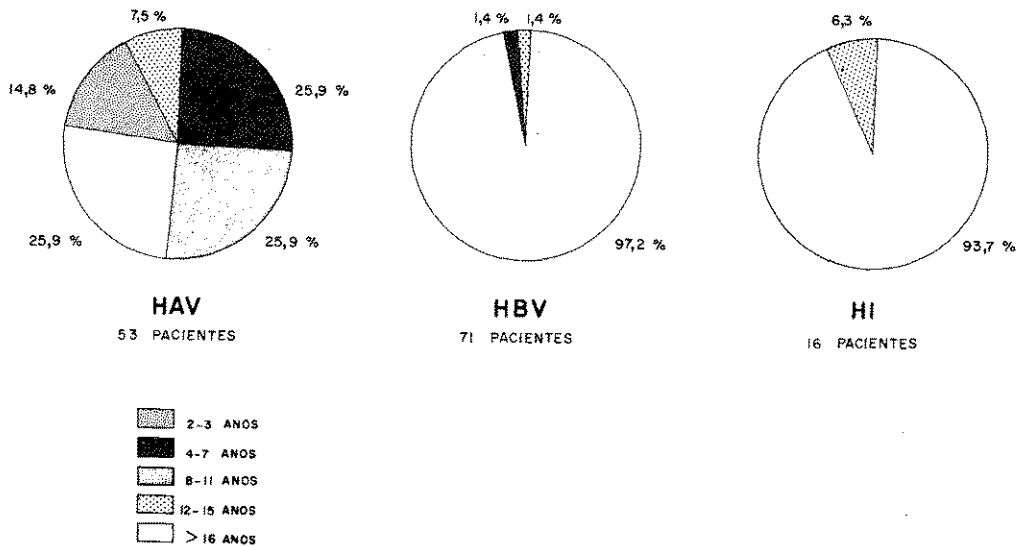


FIGURA 1 — Incidência de hepatite A (HAV), hepatite B (HBV) e hepatite de causa indeterminada (HI), de acordo com a faixa etária.

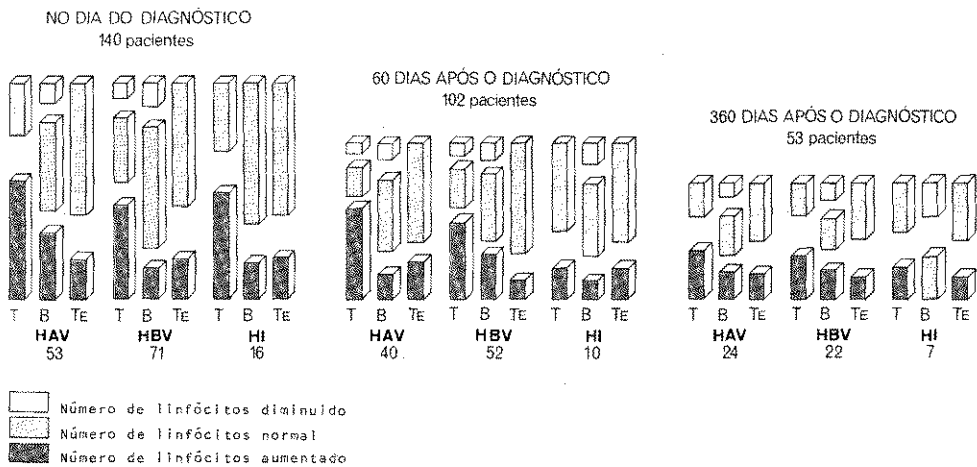


FIGURA 2 — Variação no número de linfócitos T, linfócitos B, e linfócitos T formadores de roseta estável, expressa em valores aumentados, normais e diminuídos, entre os doentes com HAV, HBV e HI.

Não houve alterações significativas deste quadro, com exceção dos doentes com hepatite de causa indeterminada que mostraram número de linfócitos B diminuído em 11,1% e 42,9% dos doentes, após 60 e 360 dias.

Quanto ao número de linfócitos T formadores de roseta E, estável a 37°C, não foram encontradas alterações significativas durante todo o estudo, sendo que a maioria dos doentes com HAV, HBV e HI tinham essas células em número inferior a 10%.

DISCUSSÃO

Por ser a hepatite A transmitida preferencialmente por via fecal-oral, o acometimento de crianças em idade escolar é mais freqüente. Nesse estudo foi verificado maior incidência de hepatite A em doentes com idade inferior a 15 anos, enquanto na hepatite B e na hepatite de causa indeterminada ocorreu o inverso.

Quanto à percentagem de retorno, acreditamos ter sido esta satisfatória, uma vez que todos os doentes estudados evoluíram para a cura e, naturalmente, após um ano da doença muitos não retornaram.

No presente trabalho, os resultados do número de linfócitos T discordam dos de De HORATIUS *et alii*⁷, COLOMBO *et alii*⁵ e THOMAS *et alii*¹² que encontraram número de linfócitos T reduzido na hepatite B aguda que voltou à normalidade com a cura, e número de linfócitos T reduzido na hepatite B crônica persistente. Por outro lado, D'AMELIO *et alii*⁸ encontraram número normal de linfócitos T e B na hepatite B aguda, crônica ativa e crônica persistente.

Estudos feitos por D'AMELIO *et alii*⁸ mostraram número de linfócitos B normal em doentes com hepatite B aguda ou crônica,

enquanto COLOMBO *et alii*⁵ encontraram número de linfócitos B aumentados em doentes com hepatite B crônica ativa. ALDERSHVILLE *et alii*¹ encontraram número de linfócitos B normais nos vários tipos de hepatite, concordando em parte com os resultados obtidos neste estudo.

Em 1976, GALILI *et alii*¹¹, estudando marcadores de membrana e cultura mista de linfócitos, verificaram que a subpopulação de linfócitos T capaz de formar roseta E, estável a 37°C, desempenhava função supressora. WANSBROUGH-JONES *et alii*³ encontraram essa subpopulação de linfócitos T em valores superiores a 10% dos linfócitos totais em doentes com hepatite B aguda e crônica, mas que não apresentavam o antígeno HBs no soro. Por outro lado, em pessoas normais e em doentes com hepatite crônica, porém com antígeno HBs no soro, esses linfócitos ocorreram em número inferior a 10% da população total de linfócitos.

GALILI *et alii*⁹ também encontraram maior número de linfócitos formadores de roseta E, estável a 37°C, em doentes com hepatite crônica ativa.

Neste trabalho não foi possível correlacionar o número de linfócitos formadores de roseta E, estável a 37°C, com o tipo ou forma de hepatite, uma vez que os resultados obtidos foram similares para hepatite A, hepatite B e hepatite de causa indeterminada, e nenhum doente evoluiu para cronicidade.

Agradecimentos

Agradecemos ao Dr. Paulo Augusto Ayrosa Galvão, Diretor Técnico do Hospital Emílio Ribas, a autorização para a realização do presente trabalho, e aos médicos Dra. Tuba Milstein e Dr. Vasco Carvalho Pedroso de Lima, pela seleção dos doentes.

RIALA6/569

ARAÚJO, A. C.; FREITAS, I. W. & TAKEDA, A. K. — Levels of peripheral T and B lymphocytes in acute hepatitis. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44:29-33, 1984.

ABSTRACT: The number of T lymphocytes, B lymphocytes and T lymphocytes forming E rosette stable at 37°C was determined in a group of 140 patients with clinical and laboratory diagnosis of acute hepatitis attended in a hospital for infectious diseases of the City of São Paulo between October 1981 and May 1982. Serological tests for antigens and/or antibodies for hepatitis A and B viruses disclosed that 97.8% of the patients had A hepatitis and 50.7% had B hepatitis, while 11.5% were negative for hepatitis A or B and were thus considered as undetermined hepatitis. The number of lymphocytes was determined on the day of clinical diagnosis and later at 60 and 360 days. The number of T lymphocytes was increased in most patients with hepatitis A or B but returned to normal levels 60 or 360 days in the patients with undetermined hepatitis. B lymphocytes were normal in the majority of patients, irrespective of time or hepatitis type. No significant alteration of T lymphocytes forming E rosette stable at 37°C was observed in most patients during the whole period of study. Some interpretations are made of the relationships between lymphocyte levels and the type and form of acute hepatitis.

DESCRIPTORS: hepatitis; hepatitis, A, B; B lymphocytes in hepatitis, frequency; T lymphocytes in hepatitis, frequency.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALDERSHVILE, J.; DIETRICHSON, O.; HARDT, F. & NIELSEN, J. O. — Circulating T and B lymphocytes and immunoglobulin containing cells in the liver in chronic active liver disease. *Acta path. microbiol. Scand. (Sect. C)*, 85:26-32, 1977.
2. BÖYUM, A. — Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 21(suppl. 97):1-109, 1968.
3. CAMPBELL, A. R.; WALLER, C.; WOOD, J.; AYNLEY-GREEN, A. & YU, V. — Lymphocyte subpopulations in the blood of newborn infants. *Clin. exp. Immunol.*, 18:469-82, 1974.
4. CHISARI, F. V.; ROUTENBERG, J. A.; ANDERSON, D. S. & EDINGTON, T. S. — Cellular immune reactivity in HBV — induced liver disease. In: VYAS, G. N., COHEN, S. N. & SCHMIDT, R., ed. — *Viral hepatitis*. Philadelphia, Franklin Institut press, 1978. p. 245-57.
5. COLOMBO, M.; VERNACE, S. J. & PARONETTO, F. — T and B lymphocytes in patients with chronic active hepatitis (CAH). *Clin. exp. Immunol.*, 30:4-9, 1977.
6. D'AMELIO, R.; CIARLA, M. V.; PANDOLFI, F.; PANICHI, G.; SPOSITO, M. & AIUTI, F. — T and B lymphocytes in the liver and peripheral blood of subjects with acute and chronic hepatitis. *Z. Immunitätsforsch.*, 155:338-45, 1979.
7. DE HORATIUS, R. J.; STRICHLAND, R. G. & WILLIAMS, R. C., JR. — T and B lymphocytes in acute and chronic hepatitis. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 2:353-60, 1974.
8. DUDLEY, F. J.; GIUSTINO, V. & SHERLOCK, S. — Cell-mediated immunity in patients positive for hepatitis-associated antigen. *Br. med. J.*, 4:754-6, 1972.
9. GALILI, U.; ELIAKIM, M.; SLAVIN, S. & SCHLESINGER, M. — Lymphocyte subpopulations in chronic active hepatitis: Increase in lymphocytes forming stable E-rosettes. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 4:538-44, 1975.
10. GALILI, U. & SCHLESINGER, M. — Subpopulations of human thymus cells differing in their capacity to form stable E-rosettes and their immunologic reactivity. *J. Immunol.*, 115:827-33, 1975.
11. GALILI, U. & SCHLESINGER, M. — The formation of stable E-rosettes by human T lymphocytes activated in mixed lymphocyte reactions. *J. Immunol.*, 117:730-5, 1976.
12. THOMAS, H. C.; FRENI, M.; SANCHEZ-TAPIAS, J.; DE VILLIERS, D.; JAIN, S. & SHERLOCK, S. — Peripheral blood lymphocyte populations in chronic liver disease. *Clin. exp. Immunol.*, 26:222-27, 1976.
13. WANSBROUGH-JONES, M. H.; SCULLARD, G. H.; NICHOLSON, A.; EDDLESTON, A. L. W. F. & WILLIAMS, R. — Lymphocytes forming stable E-rosettes in acute and chronic hepatitis. *Clin. exp. Immunol.*, 35:390-6, 1979.

Recebido para publicação em 17 de dezembro de 1983.

AValiação DA PROVA DE HEMAGLUTINAÇÃO PASSIVA NO DIAGNÓSTICO DA LEPTOSPIROSE HUMANA *

Maricy Alves RIBEIRO **
Antonella GODANO **
Massami KAWARABAYASHI **
Raquel Bellinati Robert PIRES **
Márcia de Souza Carvalho MELHEM **
Thaís Helena Sampaio VIANNA **
Zélia Maria de Oliveira CAVALCANTE ***

RIALA6/570

RIBEIRO, M. A.; GODANO, A.; KAWARABAYASHI, M.; PIRES, R. B. R.; MELHEM, M. S. C.; VIANNA, T. H. S. & CAVALCANTE, Z. M. O. — Avaliação da prova de hemaglutinação passiva no diagnóstico da leptospirose humana. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):35-40, 1984.

RESUMO: A prova de hemaglutinação passiva foi avaliada em relação à soroaglutinação microscópica em 437 amostras de soros provenientes de 192 pacientes com quadro clínico sugestivo de leptospirose, internados no Hospital de Isolamento "Emílio Ribas", em São Paulo. A prova de hemaglutinação passiva apresentou associação significativa com a soroaglutinação microscópica, revelando-se, pois, uma prova alternativa de elevado valor diagnóstico.

DESCRIPTORIOS: leptospirose humana, imunodiagnóstico; anticorpos, determinação no soro; prova de hemaglutinação passiva.

INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma doença com alta prevalência em nosso meio. Epidemias podem ocorrer na época das chuvas, quando os hospitais são procurados por numerosos pacientes com suspeita de leptospirose, provenientes das regiões atingidas pelas enchentes. O diagnóstico laboratorial é feito, principalmente, pela pesquisa de anticorpos específicos, sendo que a soroaglutinação microscópica (SAM), que utiliza culturas vivas de leptospira, é a prova-padrão recomendada pela Organização Mundial da Saúde⁴. Apresenta porém a necessidade de manutenção de culturas de numerosos sorotipos patogênicos, oferecendo ainda risco de contaminação ao laboratorista. Outras provas têm sido propostas, dentre elas a hemaglu-

tinação passiva (HAP), avaliada há vários anos por diversos autores^{2, 7, 9, 10}. No entanto, não tem sido tão empregada quanto a prova de SAM⁴, porque os resultados nem sempre se correlacionam, provavelmente devido a diferentes sistemas antígeno-anticorpo envolvidos. Conseqüentemente, tem havido tendência em subestimar o valor da prova de HAP, prevalecendo os resultados da prova de referência (SAM). Entretanto, é conceito vigente entre os pesquisadores que a prova de HAP, além de ser gênero-específica e de rápida execução, detecta anticorpos na fase aguda da infecção e, para tanto, utiliza como antígeno uma fração polissacarídica da leptospira^{4, 9}.

O presente trabalho pretende avaliar a HAP como prova diagnóstica, comparada à SAM, em condições onde o laboratório não

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Do Instituto de Saúde, São Paulo, SP.

tem acesso a maiores informações quanto à fase da doença em que se encontra o paciente, por ocasião da coleta das amostras nomicamente a leptospira, a saber:

MATERIAIS E MÉTODOS

Soros analisados

No período de janeiro a abril de 1983, foram obtidas 437 amostras de sangue, colhidas por punção venosa, compreendendo 2 a 3 amostras seriadas de 192 pacientes internados no Hospital de Isolamento "Emílio Ribas" de São Paulo, com quadro clínico sugestivo de leptospirose. Foram também analisadas amostras séricas de pacientes com outras doenças que devem ser consideradas no diagnóstico diferencial, ou cujo agente etiológico está relacionado morfológica e taxonomicamente à leptospira, a saber:

- 20 pacientes com malária, com parasitemia comprovada por exame de gota espessa, sendo 13 por *P. falciparum* e 7 por *P. vivax*;
- 14 pacientes com hepatite por vírus A, cujos soros foram positivos para anticorpo IgM, ou através da prova de radioimunoensaio*;
- 42 com hepatite por vírus B, com antígeno HBs positivo na prova de hemaglutinação passiva reversa;
- 28 pacientes com sorologia sugestiva de sífilis, ou seja, reagentes nas provas de fixação de complemento (microtécnica do "Laboratory Branch Complement Fixation"), VDRL** e FTA-ABS***;
- 20 pacientes com febre tifóide, confirmados por hemocultura ou por meio de reação de Widal, com diagnóstico clínico compatível.

Soroaglutinação microscópica

A prova de soroaglutinação microscópica foi realizada de acordo com a técnica descrita em RIBEIRO *et alii*⁹, utilizando a bateria constituída pelos seguintes sorotipos:

- icterohaemorrhagiae*, cepa RGA;
- copenhageni*, cepa M20;
- panama*, cepa CZ214 K;
- grippotyphosa*, cepa Moskva V;
- canicola*, cepa Hond Utrecht IV;
- pomona*, cepa Pomona;
- bataviae*, cepa Swart;
- australis*, cepa Ballico;

wolffi, cepa Divaldo;

patoc, cepa Patoc I.

Foram considerados soros com títulos significativos, mencionados como positivos, aqueles que reagiram à diluição 1:100 ou maior, com algum dos sorotipos acima referidos, critério este adotado por diversos autores^{10, 11, 13}.

Hemaglutinação passiva

A prova de hemaglutinação passiva, para a pesquisa de anticorpos específicos para antígeno polissacarídico F₁ de *patoc* Patoc I⁵, foi realizada conforme procedimento descrito em RIBEIRO *et alii*⁹. O valor adotado como título significativo, mencionado como positivo (≥ 128), nesta prova, teve por base a análise dos resultados encontrados no grupo-controle de 100 soros humanos considerados normais, estudado em trabalho anterior⁹, onde a frequência deste título ocorreu em apenas 4% desse grupo. Foram considerados significativos, também, os resultados em que houve soroconversão, isto é, com diferença de duas ou mais diluições entre duas amostras seriadas.

Análise estatística

Foram empregados os testes do χ^2 e de igualdade de proporções, com nível de significância (α) igual a 5% para verificar respectivamente a associação e a precocidade diagnóstica apresentadas nas provas de SAM e HAP, nas amostras analisadas.

RESULTADOS

A análise dos resultados obtidos na prova de hemaglutinação passiva teve por base o confronto com a prova de soroaglutinação microscópica. Na tabela 1 são encontrados os resultados da 1.^a amostra sérica dos 192 pacientes estudados.

Observou-se positividade simultânea em 36,46% e concordância quanto a resultado negativo em 45,31% das amostras. Em 35 soros houve discordância nos resultados das provas, sendo 24 (12,50%) com títulos positivos somente para a prova de HAP e 11 (5,73%) para a prova de SAM.

A conclusão diagnóstica laboratorial específica, obtida através de ambas as provas, após seguimento sorológico dos pacientes, encontra-se na tabela 2.

Observou-se concordância entre as duas provas em 73,44% dos pacientes, quanto à presença de títulos positivos e, em 20,31%, quanto à ausência desses títulos. Em 12 (6,25%) pacientes, os resultados laboratoriais foram discordantes.

* Conjunto de reagentes HAVAB-M, Abbott Lab., North Chicago, Ill., E.U.A.

** Reação de floculação em lâmina, utilizando o antígeno de cardiolipina.

*** Teste de anticorpos treponêmicos fluorescentes com absorção prévia dos soros com treponema Reiter.

RIBEIRO, M. A.; GODANO, A.; KAWARABAYASHI, M.; PIRES, R. B. R.; MELHEM, M. S. C.; VIANNA, T. H. S. & CAVALCANTE, Z. M. O. — Avaliação da prova de hemaglutinação passiva no diagnóstico da leptospirose humana. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):35-40, 1984.

TABELA 1

Resultados obtidos nas provas de soroaglutinação microscópica e hemaglutinação passiva na 1.^a amostra sérica dos 192 pacientes

HAP \ SAM	Casos positivos		Casos negativos		Total	
	n.º	%	n.º	%	n.º	%
Casos positivos	70	36,46	11	5,73	81	42,19
Casos negativos	24	12,50	87	45,31	111	57,81
Total	94	48,96	98	51,04	192	100,00

$$\chi^2_{\text{observado}} = 2,708$$

$$\chi^2_{\text{crítico}} (0,05) = 3,841$$

gl = 1

TABELA 2

Distribuição dos 192 pacientes, segundo conclusão diagnóstica após o estudo sorológico seqüencial nas provas de soroaglutinação microscópica e hemaglutinação passiva

HAP \ SAM	Casos positivos		Casos negativos		Total	
	n.º	%	n.º	%	n.º	%
Casos positivos	141	73,44	5	2,60	146	76,04
Casos negativos	7	3,65	39	20,31	46	23,90
Total	148	77,09	44	22,91	192	100,00

$$\chi^2_{\text{observado}} = 0,533$$

$$\chi^2_{\text{crítico}} (0,05) = 3,841$$

gl = 1

Quanto aos cálculos estatísticos, o χ^2 indica a existência de associação entre as provas de SAM e HAP, ao nível de 5% na 1.^a amostra sérica (tab. 1), bem como após a conclusão diagnóstica laboratorial (tab. 2).

A verificação da precocidade diagnóstica nos 141 pacientes, cujos resultados finais foram positivos em ambos os métodos, encontra-se na tabela 3.

Constatou-se que 109 pacientes mostraram títulos positivos nas duas provas, na mesma amostra sérica (positividade simultânea). Em 22 destes pacientes, a HAP demonstrou

anticorpos específicos precocemente em relação à SAM. Por outro lado, a SAM revelou precocemente títulos positivos em 10 pacientes. Aplicando-se o teste de proporções para comparar a precocidade relativa da SAM e da HAP, conclui-se que, ao nível de 5%, não houve diferença estatisticamente significante.

Na tabela 4 encontram-se os resultados obtidos com o emprego da prova HAP em uma única amostra sérica de pacientes com infecções várias, a saber: malária, hepatite, sífilis e febre tifóide. Esses soros não tiveram títulos positivos para leptospirose, na prova de soroaglutinação microscópica.

TABELA 3

Distribuição dos 141 pacientes, segundo a precocidade diagnóstica das provas de soroaglutinação microscópica e hemaglutinação passiva

Positividade simultânea	Positividade precoce		Total
	HAP	SAM	
109	22	10	141

TABELA 4

Distribuição dos 124 pacientes, segundo a doença, e títulos de anticorpos na hemaglutinação passiva para o diagnóstico da leptospirose

Doença	Título na HAP	≤ 64	128	256	TOTAL
Hepatite B		41	0	1	42
Hepatite A		13	0	1	14
Sífilis		27	1	0	28
Febre tifóide		18	2	0	20
Malária (<i>P. falciparum</i>)		13	0	0	13
Malária (<i>P. vivax</i>)		7	0	0	7
Total		119	3	2	124

DISCUSSÃO

Entre as imunoglobulinas produzidas na infecção leptospirótica humana estão as aglutininas responsáveis pela soroaglutinação microscópica, prova esta considerada relativamente sorotipo-específica⁴, quando são utilizados sorotipos patogênicos, e gênero-específica, quando o sorotipo *patoc* Patoc I é utilizado como antígeno.

Por outro lado, são conhecidos os anticorpos formados contra frações antigênicas de *Leptospira*, as quais têm a capacidade de sensibilizar eritrócitos *in vitro*, entre eles o anticorpo anti-F₁, intensivamente estudado por ADLER & FAINE¹, responsável pela reação de hemaglutinação passiva, objeto desta pesquisa. Títulos significativos obtidos nesta prova indicam presença de infecção aguda, eis que, ao

contrário da SAM, a HAP não revela anticorpos residuais de infecções progressas. O processamento das primeiras amostras de soro dos 192 pacientes demonstrou que existe associação entre SAM e HAP, ao nível de significância de 5%.

Cumpre-nos lembrar, no entanto, que não era conhecido o estágio vigente de doença na ocasião em que foram colhidas as amostras. Sabe-se que alguns pacientes vêm transferidos de outro hospital, ou procuram o Hospital "Emílio Ribas" tardiamente, de modo que nem sempre a primeira amostra por nós analisada corresponde ao período imediato ao início dos sintomas. Em vista disto, foi realizado um estudo sorológico seqüencial desses pacientes (tab. 2) onde se pode confirmar, após a conclusão diagnóstica laboratorial, que houve associação entre as provas de SAM e HAP.

Procurando avaliar os 7 casos (tab. 2), cujos resultados foram positivos somente na prova HAP, procedeu-se ao estudo retrospectivo de cada um destes pacientes, objetivando comprovação clínica, epidemiológica ou laboratorial. Verificou-se que 6 destes pacientes tiveram confirmação laboratorial (SAM com títulos positivos) em amostras subseqüentes, que foram analisadas após o término deste trabalho e apenas um caso não foi confirmado pela SAM, mas teve comprovação clínica e epidemiológica. Deste modo, foi aceita a hipótese de leptospirose nos 7 pacientes, podendo-se inferir que nesses casos houve precocidade diagnóstica da HAP em relação à SAM, e não resultados falso-positivos. Da mesma forma, a prova de SAM apresentou resultados positivos precoce em relação à HAP em 5 casos (em três os soros reagiram apenas com o sorotipo *patoc*) que foram confirmados clínica ou epidemiologicamente.

Analisando a precocidade diagnóstica das provas de SAM e HAP (tab. 3), constatou-se que, dentre os 141 pacientes que apresentaram títulos positivos em ambas as provas, 22 casos foram precocemente diagnosticados pela HAP contra 10, que o foram pela SAM. Porém, tal diferença não foi estatisticamente significativa ao nível de 5%, discordando dos resultados anteriormente apresentados por

RIBEIRO et alii⁹. Com isto, torna-se indispensável uma reavaliação da precocidade diagnóstica relativa às duas provas, utilizando-se os mesmos critérios de positividade, num grupo de pacientes com leptospirose, com conhecimento prévio da data do início dos sintomas.

Quanto à especificidade da prova de hemaglutinação, conforme observado na tabela 4, não foi relevante o número de casos com títulos positivos encontrados nos grupos de pacientes portadores de hepatite por vírus A e B, sífilis e malária. Sobre a ocorrência de dois casos de febre tifóide que apresentaram título igual a 128, não se pode descartar a hipótese de infecção dupla, conforme foi descrito por TIRIBA et alii¹². Devido ao número reduzido de casos estudados e à falta de maiores informações sobre esses pacientes, impõe-se a necessidade de nova investigação sobre a incidência de títulos de anticorpos hemaglutinantes para leptospirose, em indivíduos portadores de outras infecções.

Agradecimentos

Nossos agradecimentos ao Dr. Marcelo O.A. Corrêa, pelo constante incentivo, e pela valiosa colaboração na realização deste trabalho.

RIALA6/570

RIBEIRO, M. A.; GODANO, A.; KAWARABAYASHI, M.; PIRES, R. B. R.; MELHEM, M. S. C.; VIANNA, T. H. & CAVALCANTE, Z. M. O. — Evaluation of passive hemagglutination test for human leptospirosis. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):35-40, 1984.

ABSTRACT: The passive hemagglutination test for leptospirosis was compared with the microscopic seroagglutination test in 437 sera from 192 patients suspected to have leptospirosis, admitted to a hospital for infectious diseases in São Paulo City, Brazil. Passive hemagglutination assay demonstrated significant association with the microscopic seroagglutination test, revealing itself as an excellent alternative diagnostic method.

DESCRIPTORS: leptospirosis, human, immunodiagnosis; antibodies, determination in serum; passive hemagglutination test.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADLER, B. & FAINE, S. — The antibodies involved in the human immune response to leptospiral infection. *J. med. Microbiol.*, 11:387-400, 1978.
2. CHANG, R. SHIH-MAN & McCOMB, D. E. — Erythrocyte sensitizing substances from five strains of leptospirae. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 3:481-9, 1954.
3. CORRÊA, M. O. A.; NATALE, V.; SADAT-SUNE, T. & FLEURY, G. C. — Valor prático do uso da *Leptospira semaranga* Patoc. I no diagnóstico das leptospiroses humanas. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 12:284-7, 1970.
4. FAINE, S., ed. — *Guidelines for the control of leptospirosis*. Geneva, WHO, 1982. 171 p. [WHO offset publication n.º 67]

RIBEIRO, M. A.; GODANO, A.; KAWARABAYASHI, M.; PIRES, R. B. R.; MELHEM, M. S. C.; VIANNA, T. H. S. & CAVALCANTE, Z. M. O. — Avaliação da prova de hemaglutinação passiva no diagnóstico da leptospirose humana. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):35-40, 1984.

5. FAINE, S.; ADLER, B. & PALIT, A. — Chemical, serological and biological properties of a serotype-specific polysaccharide antigen in *Leptospira*. *Austr. J. exp. Biol. Med. Sci.*, 52:311-9, 1974.
6. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ. Group d'experts de l'OMS. — *Problèmes actuels des recherches sur la leptospirose*. Moscou, 1966. *Rapport*. Genève, 1967. [Sér. rapp. techn. n.º 380]
7. PALIT, A. & GULASEKHARAM, J. — Genus-specific leptospiral antigen and its possible use in laboratory diagnosis. *J. clin. Path.*, 26:7-16, 1973.
8. RIBEIRO, M. A.; KAWARABAYASHI, M. & TAKEDA, A. K. — Imunodiagnóstico da leptospirose humana. 1. Antígeno polissacarídico para a prova de hemaglutinação passiva. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41:127-33, 1981.
9. RIBEIRO, M. A.; KAWARABAYASHI, M.; YAMADA, L. K.; TAKEDA, A. K. & CORRÊA, M. O. A. — Imunodiagnóstico da leptospirose humana. 2. Estudo comparativo das reações de soroglutinação microscópica, hemaglutinação passiva e imunofluorescência indireta. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41:135-43, 1981.
10. SULZER, C. R.; GLOSSER, J. W.; ROGERS, F.; JONES, W. L. & FRIX, M. — Evaluation of an indirect hemagglutination test for the diagnosis of human leptospirosis. *J. clin. Microb.*, 2:218-21, 1975.
11. TERPSTRA, W. J.; SCHOONE, G. J. & LIGTHART, G. S. — Counterimmunoelectrophoresis in the diagnosis of human leptospirosis. *Zbl. Bakt., I. Abt. Orig.*, 244: 285-90, 1979.
12. TIRIBA, A. C.; CALY, M. L.; PESSOA, M. C. & GUIMARÃES, J. X. — Febre tifóide com leptospirose icterohaemorrágica. Quatro casos de infecção simultânea observados no Hospital "Emílio Ribas", durante os anos de 1970-71. *R. Soc. bras. Med. trop.*, 6:399-400, 1972. [Resumo]. Apresentado no 8.º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Belo Horizonte, 1972.
13. TURNER, L. H. — Leptospirosis II. Serology. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 62:880-99, 1968.

Recebido para publicação em 10 de novembro de 1988.

HEMOPARASITAS DE AVES CAPTURADAS EM DUAS REGIÕES DO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL *

Rosa Maria Donini Souza DIAS **
Pedro Paulo CHIEFFI **
José Eduardo TOLEZANO **
Norival LUPETTI**

RIALA6/571

DIAS, R. M. D. S.; CHIEFFI, P. P.; TOLEZANO, J. E. & LUPETTI, N. —
Hemoparasitas de aves capturadas em duas regiões do Estado de São Paulo,
Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):41-46, 1984.

RESUMO: Examinaram-se esfregaços de sangue de 256 exemplares de aves capturadas vivas em duas estações de campo mantidas pelo Instituto Adolfo Lutz, para fins de vigilância epidemiológica nos municípios de Iguape e Itapetininga, no litoral e interior do Estado de São Paulo, respectivamente. Após captura com rede apropriada, as aves eram classificadas, sangradas, identificadas com anel metálico e, a seguir, soltas novamente em seu habitat natural. Das 256 aves capturadas, 252 pertenciam à Ordem Passeriforme e apenas 4 foram classificadas como Columbiformes. De cada ave preparou-se um esfregaço de sangue que, após fixação com metanol, foi corado pela técnica de Giemsa. Em 35 (13,7%) dos esfregaços examinados encontraram-se uma ou mais espécies de hemoparasitas. *Plasmodium* sp. foi o parasita mais freqüente, ocorrendo em 16 aves (6,2%); microfilárias foram diagnosticadas em 12 aves (4,7%); *Trypanosoma* sp. em 5 aves (2,0%); *Haemoproteus* sp. em 3 aves (1,2%) e gametócitos de *Leucocytozoon* sp. foram encontrados parasitando apenas uma das aves examinadas (0,4%). Notou-se tendência a encontro mais freqüente de microfilárias nas aves originárias do município de Itapetininga. Para as demais espécies de hemoparasitas, não se verificaram diferenças significativas nas taxas de freqüência conforme o local de captura das aves.

DESCRITORES: aves silvestres, hemoparasitismo; parasitas (hemoparasitas), em aves silvestres, São Paulo, Brasil.

INTRODUÇÃO

Nos primórdios do século XX, a presença de hemoparasitas em aves capturadas no Brasil despertou a atenção de diversos pesquisadores^{1, 4, 7}.

Anos mais tarde, novas contribuições ao estudo de parasitas sangüíneos de aves surgiram^{2, 6, 8, 9}, algumas com o objetivo de sistematizar o conhecimento já existente. Todavia, apenas recentemente se empreenderam estudos com maior abrangência, procurando-se determinar o índice de hemopara-

sitismo em grande número de espécies de aves capturadas em seus ecótopos naturais^{3, 5}.

O presente trabalho acrescenta novas informações à publicação de BENNETT & LOPES³, referindo-se a aves capturadas em duas regiões do Estado de São Paulo, dentro do programa de vigilância epidemiológica para arboviroses.

MATERIAL E MÉTODOS

Examinaram-se esfregaços de sangue de 256 exemplares de aves capturadas vivas em

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

duas estações de campo mantidas pelo Instituto Adolfo Lutz, localizadas nos municípios de Iguape (193 aves) e Itapetininga (63 aves). Após captura com rede apropriada, as aves eram classificadas, sangradas, identificadas com anel metálico e, a seguir, soltas novamente em seu habitat natural.

De cada ave preparou-se um esfregaço de sangue que, após fixação com metanol, foi corado pela técnica de Giemsa. As lâminas foram examinadas em microscópio óptico, utilizando-se objetivas de 10 a 100 aumentos.

RESULTADOS

Das 256 aves capturadas, 252 pertenciam à Ordem Passeriforme e apenas 4 foram classificadas como Columbiformes. Ao todo foram capturadas 60 espécies.

Em 35 (13,7%) aves encontraram-se uma ou mais espécies de hemoparasitas. Estas aves pertenciam a 17 diferentes espécies, cujos nomes científicos e populares constam da tabela 1.

TABELA 1

Nomes populares das espécies de aves que albergavam hemoparasitas

Nome científico	Nome popular
<i>Turdus rufiventris</i>	Sabiá-laranjeira
<i>Turdus albicollis</i>	Sabiá-coleira
<i>Conopophaga lineata</i>	Chupa-dente
<i>Columbina talpacoti</i>	Rola-roxa
<i>Manacus manacus</i>	Rendeira
<i>Sporophila caerulescens</i>	Papa-capim
<i>Vireo olivaceus</i>	Juruviara
<i>Thamnophilus caerulescens</i>	Choca
<i>Tachiphonus coronatus</i>	Tiê-preto
<i>Passer domesticus</i>	Pardal
<i>Zonotrichia capensis</i>	Tico-tico
<i>Automolus leucopthalmus</i>	Barranqueiro-de-olho branco
<i>Schistochlamys ruficapillus</i>	Bico-de-veludo
<i>Volatinia jacarina</i>	Tiziu
<i>Haplospiza unicolor</i>	Cigarra-bambu
<i>Pyriglena leucoptera</i>	Papa-taoca
<i>Cnemotriccus fuscatus</i>	_____

Entre os hemoparasitas diagnosticados, o *Plasmodium* sp. (fig. 1) foi o mais freqüente, ocorrendo em 16 (6,2%) aves. Microfilárias (fig. 2), não identificadas quanto ao gênero a que pertenciam, foram encontradas em 12 (4,7%) aves; exemplares de *Trypanosoma* sp. (fig. 3) foram diagnosticados em 5 (2,0%) aves, e em 3 (1,2%) aves encontrou-se *Haemoproteus* sp. (fig. 4). Gametócitos de *Leucocytozoon* sp. foram identificados em apenas uma (0,4%) das aves examinadas. A tabela 2 sumariza o encontro de hemoparasitas, conforme a espécie de ave examinada.

Quando se analisou o número de exemplares de aves albergando hemoparasitas, conforme a região de captura, notou-se tendência a

encontro mais freqüente de aves parasitadas na região de Itapetininga. Tal diferença se deve principalmente ao fato de, nesta localidade, ter sido maior a taxa de ocorrência de microfilárias. Para as demais espécies de hemoparasitas não se verificaram diferenças importantes na taxa de freqüência, conforme o local de captura (tab. 3).

DISCUSSÃO

De um total de 256 aves pertencentes a 60 espécies diferentes, 35 (13,7%) apresentaram-se albergando uma ou mais espécies de hemoparasitas. É interessante notar que

apenas 17, dentre as 60 espécies de aves estudadas, estavam parasitadas. Todavia, o pequeno número de exemplares capturados de cada espécie não permite qualquer inferência sobre a importância deste achado.

De qualquer forma, o índice pouco elevado de hemoparasitismo verificado é, conforme relatam BENNETT & LOPES³, semelhante ao de outros países da região neotropical onde, presumivelmente, seria menor o potencial de transmissão para hemoparasitas de aves.

Fica patente, também, a baixa frequência de parasitismo por *Leucocytozoon* sp. e *Haemoproteus* sp. e a ocorrência de diferentes índices de hemoparasitismo, quando se consideram as regiões de captura das aves, conforme já fora assinalado anteriormente^{3, 5}.

O encontro de microfilárias em esfregaços de sangue de aves capturadas em Itapetininga, de forma mais freqüente do que em outra região, corrobora o que já fora assinalado em quirópteros capturados no mesmo município¹⁰.

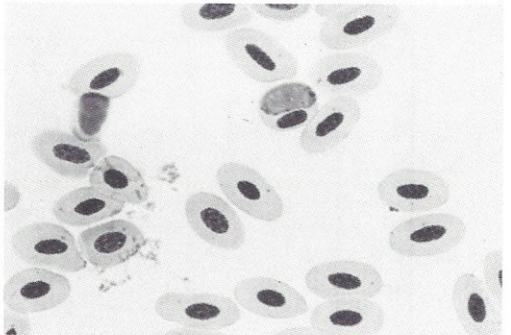
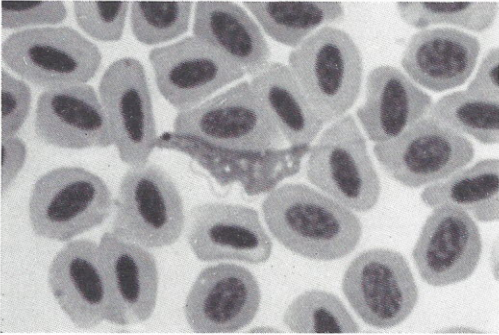
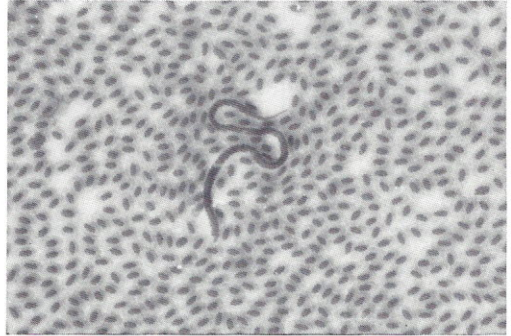
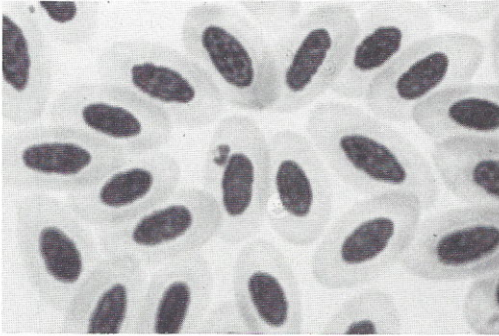


FIGURA 1 — Trofozoita de *Plasmodium* sp. em sangue periférico de *Conopophaga lineata*. Aum. 1.000 x.

FIGURA 2 — Microfilária não identificada em sangue periférico de *Turdos rufiventris*. Aum. 400 x.

FIGURA 3 — *Trypanosoma* sp. em sangue periférico de *Conopophaga lineata*. Aum. 1.600 x.

FIGURA 4 — Gametócito de *Haemoproteus* sp. em sangue periférico de *Zonotrichia capensis*. Aum. 1.000 x.

TABELA 2

Distribuição dos hemoparasitas nas aves silvestres infectadas, capturadas nas regiões de Iguape e Itapetininga, no Estado de São Paulo, Brasil

Espécie	Total de animais parasitados	Hemoparasitas				
		<i>Plasmodium</i> sp.	<i>Haemoproteus</i> sp.	<i>Leucocytozoon</i> sp.	<i>Trypanosoma</i> sp.	Microfilárias
<i>Turdus rufiventris</i>	3	1	—	—	—	2
<i>Conopophaga lineata</i>	4	2	—	—	2	—
<i>Columbina talpacoti</i>	2	—	—	—	—	—
<i>Manacus manacus</i>	2	1	1	—	—	—
<i>Sporophila caerulescens</i>	1	1	—	—	—	—
<i>Vireo olivaceus</i>	6	4	—	—	1	1
<i>Thamnophilus caerulescens</i>	1	1	—	—	—	—
<i>Tachiphonus coronatus</i>	5	1	—	—	1	3
<i>Passer domesticus</i>	3	3	—	—	—	—
<i>Zonotrichia capensis</i>	3	—	1	—	—	2
<i>Cnemotriccus fuscatus</i>	1	—	1	—	—	—
<i>Automolus leucophtalmus</i>	1	—	—	1	—	—
<i>Schistochlamys ruficapillus</i>	1	—	—	—	—	1
<i>Turdus albicollis</i>	1	—	—	—	—	1
<i>Volatinia jacarina</i>	1	—	—	—	—	1
<i>Haplospiza unicolor</i>	1	—	—	—	—	1
<i>Pyriglena leucoptera</i>	1	—	—	—	1	—
Total	37	16	3	1	5	12

DIAS, R. M. D. S.; CHIERFI, P. P.; TOLEZANO, J. E. & LUPETTI, N. — Hemoparasitas de aves capturadas em duas regiões do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1): 41-46, 1984.

TABELA 3

Ocorrência de hemoparasitas nas aves examinadas, conforme o local de captura

Local de captura	Aves com hemoparasitas						Aves com exame negativo	Total geral
	<i>Plasmodium</i> sp.	<i>Haemoproteus</i> sp.	<i>Leucocytozoon</i> sp.	<i>Trypanosoma</i> sp.	<i>Microfilárias</i>	Total		
Itapetininga	5 (7,93%)	2 (3,17%)	1 (1,58%)	2 (3,17%)	6 (9,52%)	16 (25,37%)	47 (74,60%)	63
Iguape	11 (5,69%)	1 (0,51%)	0 (0,00%)	3 (1,55%)	6 (3,10%)	21 (10,88%)	172 (89,11%)	193
Total	16	3	1	5	12	37	219	256

DIAS, R. M. D. S.; CHIEFFI, P. P.; TOLEZANO, J. E. & LUPETTI, N. — Hemoparasites in wild birds captured in two localities of São Paulo State, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44:41-46, 1984.

ABSTRACT: Blood smears from 256 specimens of wild birds captured alive in two field stations located in the state of São Paulo were analysed. After capture, birds were classified, bled, identified with a ring and released. Of the 256 captured birds, 252 belonged to the Order Passeriformes, while 4 to columbiformes. The blood was smeared, fixed and stained with Giemsa. In 35 (13.7%) of the smears, one or more species of hemoparasites were found. *Plasmodium* sp. was the most frequent and appeared in 16 birds (6.25%); microfilarias were found in 12 specimens (4.7%); *Trypanosoma* sp. in 5 specimens (2.0%); *Haemoproteus* sp. in 3 specimens (1.2%) and gametocytes of *Leukocytozoon* sp. were found in one specimen. Except for an apparent higher frequency of microfilarias in birds from Itapetininga municipality, there was no clear difference between the localities.

DESCRIPTORS: birds, wild, blood parasites; parasites, blood parasites in wild birds, São Paulo, Brazil.

BIBLIOGRAFIA

1. ARAGÃO, H. B. — Observações sobre algumas hemogregarinas das aves. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 3:54-64, 1911.
2. ARAGÃO, H. B. — Evolution de l' *Haemoproteus columbae* et du *Trypanosoma hannaï* dans la *Lynchia maura* Bigot. *C. r. Seanc. Soc. Biol. Fil.*, 97:827-9, 1927.
3. BENNETT, G. F. & LOPES, O. S. — Blood parasites of some birds from São Paulo State, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 75:117-34, 1980.
4. CARINI, A. & MACIEL, J. — Quelques hémoparasites du Brésil. *Bull. Soc. Path. exot.*, 9:247-65, 1916.
5. LAINSON, R.; SHAW, J. J. & HUMPHREY, P. S. — Preliminary survey blood-parasites of birds of the área de pesquisas ecológicas do Guamá, Belém, Pará, Brasil. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PARASITOLOGY, 2nd, Washington, D.C., 1970. Proceedings. *J. Parasitol.*, 56(n.º 4, Sect. II, part. I):197-8, 1970.
6. LUCENA, D. T. — Lista dos protozoários hemoparasitas de aves da região neotrópica. *Rev. Fac. Med. Vet.*, 2:33-66, 1941.
7. LUTZ, A. & MEYER, C. — Hematozoários endoglobulares. *Rev. Méd. São Paulo*, 9: 177-83, 1908.
8. PESSÓA, S. B. — Novos hemoparasitas de aves do Brasil. *An. Fac. Med. Univ. São Paulo*, 11:173-5, 1935.
9. PINTO, C. — Protozoários observados no Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 18:211-302, 1925.
10. 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.

Recebido para publicação em 12 de dezembro de 1983.

TRYPANOSOMA DO SUBGÊNERO *HERPETOSOMA* DOFLEIN, 1901 EM
PROECHIMYS IHERINGI THOMAS, 1911 CAPTURADOS NO ESTADO DE
SÃO PAULO, BRASIL *

José Eduardo TOLEZANO **
Pedro Paulo CHIEFFI **
Rosa Maria Donini Souza DIAS **
Elizabeth Visone NUNES **
Osvaldo Martínez D'ANDRADE **
Luís Eloy PEREIRA **
Domingas Maria Aparecida Grispino Vieira TORRES **
Norival LUPETTI **

RIALA6/572

TOLEZANO, J. E.; CHIEFFI, P. P.; DIAS, R. M. D. S.; NUNES, E. V.; D'ANDRADE, O. M.; PEREIRA, L. E.; TORRES, D. M. A. G. V. & LUPETTI, N. — *Trypanosoma* do subgênero *Herpetosoma* Doflein, 1901 em *Proechimys iheringi* Thomas, 1911 capturados no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44:47-53, 1984.

RESUMO: Examinando o sangue de roedores silvestres capturados vivos em estação de campo mantida pelo Instituto Adolfo Lutz, para fins de vigilância epidemiológica, em Casa Grande, município de Salesópolis, no Estado de São Paulo, verificou-se a presença de tripanossomos do subgênero *Herpetosoma* em quatro exemplares de *Proechimys iheringi*. Esses flagelados mostraram tamanho médio de 21,7 μ m e índice nuclear médio equivalente a 1,9. As tentativas de cultivo deste protozoário em meios de NNN, LIT e Ducrey, resultaram negativas; todavia, quando se semeou o tripanossomídeo em meio de Ducrey, modificado pela adição de 2% de sangue de *Proechimys iheringi*, obteve-se intensa proliferação de formas epimastigotas. As inoculações experimentais em *Mus musculus*, *Akodon* sp., *Oryzomys* sp. e *Cricetus auratus* resultaram negativas; entretanto, quando se procedeu à inoculação em *Proechimys iheringi*, nascido em laboratório, a inoculação resultou positiva com parasitemia patente. Todas as tentativas de infectar triatomíneos mostraram-se negativas. Considerando aspectos relativos ao problema da especificidade do subgênero *Herpetosoma* em relação ao hospedeiro vertebrado e os valores biométricos encontrados nos exemplares examinados, admite-se que estes flagelados pertençam à espécie ainda não descrita.

DESCRITORES: *Trypanosoma* (*Herpetosoma*); *Proechimys iheringi*.

INTRODUÇÃO

O subgênero *Herpetosoma* inclui espécies de tripanossomos primariamente parasitas de roedores¹³. O *Trypanosoma rangeli* constituiria importante exceção, pois inclui até o homem em sua ampla relação de hospedeiros⁷, embora ANEZ¹ julgue esta espécie com caracteres tais, que propõe reconsideração de

sua posição sistemática. No Brasil, já foram descritas pelo menos oito espécies de tripanossomos do subgênero *Herpetosoma*^{2, 3, 5, 6, 9, 11}. No presente trabalho são apresentados os estudos realizados com flagelados deste subgênero, observados em exemplares de *Proechimys iheringi*, capturados na estação de campo mantida pelo Instituto Adolfo Lutz em Casa Grande, município de Salesópolis no Estado de São Paulo.

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

TOLEZANO, J. E.; CHIEFFI, P. P.; DIAS, R. M. D. S.; NUNES, E. V.; D'ANDRADE, O. M.; PE-REIRA, L. E.; TORRES, D. M. A. G. V. & LUPETTI, N. — *Trypanosoma* do subgênero *Herpetosoma* Doflein, 1901 em *Proechimys iheringi* Thomas, 1911 capturados no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):47-53, 1984.

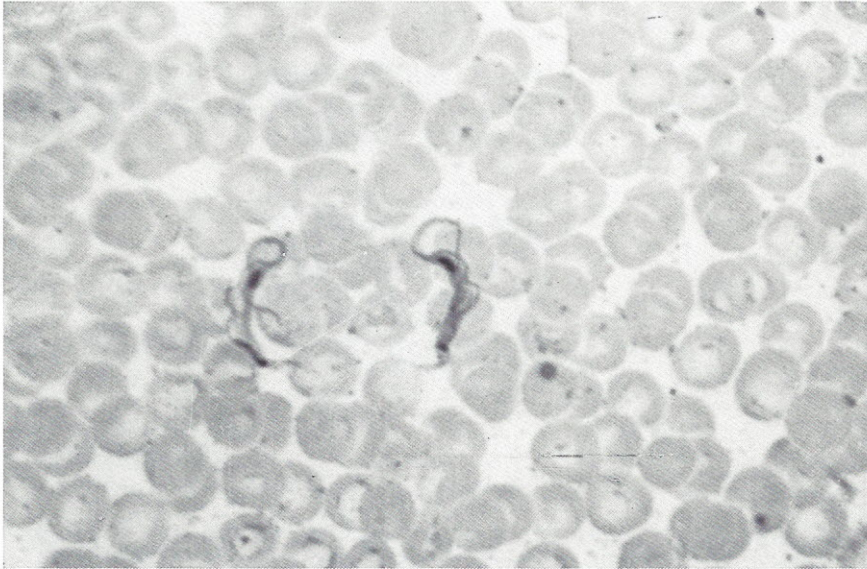


FIGURA 1 — Fotomicrografia de tripanossomas desenhados do subgênero *Herpetosoma* observados em *Proechimys iheringi*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram efetuados estudos da biometria desses tripanossomos através de observações em esfregaços sanguíneos corados pela técnica de Giemsa e pela utilização de curvímetro*.

Foram realizados testes de cultivo em meios artificiais de NNN, LIT, Ducrey, e Ducrey modificado pela adição de 2% de sangue de *Proechimys iheringi*. Inoculações experimentais foram feitas em *Mus musculus*, *Cricetus auratus*, *Akodon* sp., *Oryzomys* sp. e *Proechimys iheringi*. Tentativas de infecção experimental em *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma sordida*, *Triatoma vitticeps*, *Rhodnius prolixus*, *Rhodnius neglectus*, *Panstrongylus megistus* e *Dipetalogaster maximus*, com 10 exemplares de cada espécie, foram realizadas pela utilização da técnica do xenodiagnóstico.

Os exemplares de *P. iheringi* capturados com infecção natural foram registrados no Serviço de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz com os números 133, 185 e 228.

RESULTADOS

A figura 1 caracteriza os tripanossomídeos examinados no presente estudo. A figura 2

mostra os tripanossomos desenhados com auxílio de câmara clara.

Os valores de biometria destes flagelados estão contidos na tabela 1, que procura compará-los aos valores descritos por DEANE, 1961⁹, para *Trypanosoma* (*Herpetosoma*) *rengifo* encontrado em roedor pertencente ao mesmo gênero que o aqui estudado, porém, de espécie distinta (*Proechimys guyannensis oris*).

A variabilidade dos valores biométricos observados em dias diferentes da infecção são mostrados nas tabelas 2 e 3.

As tentativas de cultivo primário em meios de NNN, LIT, e Ducrey resultaram negativas; todavia, quando se semeou o tripanossomídeo em meio de Ducrey, modificado pela adição de 2% de sangue de *Proechimys iheringi*, obteve-se intensa proliferação de formas epimastigotas.

A tabela 4 mostra valores quantitativos de tripanossomos do subgênero *Herpetosoma* em animais encontrados naturalmente infectados e em animal infectado experimentalmente em diferentes dias de infecção. As contagens dos tripanossomos circulantes foram efetuadas por técnica semelhante à proposta por BRENER⁴.

* Marca Keuffel & Esser Co., Suíça.

TOLEZANO, J. E.; CHIEFFI, P. P.; DIAS, R. M. D. S.; NUNES, E. V.; D'ANDRADE, O. M.; PEREIRA, L. E.; TORRES, D. M. A. G. V. & LUPETTI, N. — *Trypanosoma* do subgênero *Herpetosoma* Doflein, 1901 em *Proechimys iheringi* Thomas, 1911 capturados no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):47-53, 1984.



FIGURA 2 — Tripanossomas do subgênero *Herpetosoma* observados em *Proechimys iheringi*, desenhados com auxílio de câmara clara.

TOLEZANO, J. E.; CHIEFFI, P. P.; DIAS, R. M. D. S.; NUNES, E. V.; D'ANDRADE, O. M.; PEREIRA, L. E.; TORRES, D. M. A. G. V. & LUPETTI, N. — *Trypanosoma* do subgênero *Herpetosoma* Doflein, 1901 em *Proechimys iheringi* Thomas, 1911 capturados no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):47-53, 1984.

TABELA 1

Comparação entre os valores biométricos de tripanossomos do subgênero *Herpetosoma* observados em *Proechimys iheringi*, pelos autores, e *Trypanosoma* (*Herpetosoma*) *rengioi*, estudado por DEANE⁹ em *Proechimys guyannensis oris*

Medidas	Valores biométricos encontrados (μm)		
	<i>P. iheringi</i> (n.º 133) média de 10 exemplares	<i>P. iheringi</i> (n.º 185) média de 30 exemplares	<i>P. guyannensis oris</i> média de 10 exemplares
CT	23,1	21,2	17,9
PN	16,6	12,6	—
NA	6,5	8,6	6,0
PK	4,5	4,4	3,3
KN	11,6	8,2	8,8
IN	2,6	1,5	—
IK	1,4	1,5	—

(—) Valor não citado pelo autor.

CT — comprimento total sem flagelo livre

PN — distância da extremidade posterior ao meio do núcleo

NA — distância do meio do núcleo a extremidade anterior

PK — distância da extremidade posterior ao cinetoplasto

KN — distância do cinetoplasto ao meio do núcleo

IN — índice nuclear (PN/NA)

IK — índice cinetoplasmático (PN/KN)

TABELA 2

Valores biométricos de tripanossomo do subgênero *Herpetosoma* em *Proechimys iheringi* (n.º 185) em diferentes dias de parasitemia

Medidas	Valores biométricos encontrados (μm)				
	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5
CT	23,3	23,7	17,1	20,8	31,4
PN	15,1	12,7	9,4	12,7	18,8
NA	8,2	11,0	7,7	8,2	12,6
PK	8,2	4,1	3,7	4,9	7,8
KN	6,9	8,6	5,7	7,8	11,0
IN	1,8	1,2	1,2	1,5	1,5
IK	2,2	1,5	1,6	1,6	1,7

TOLEZANO, J. E.; CHIEFFI, P. P.; DIAS, R. M. D. S.; NUNES, E. V.; D'ANDRADE, O. M.; PEREIRA, L. E.; TORRES, D. M. A. G. V. & LUPETTI, N. — *Trypanosoma* do subgênero *Herpetosoma* Doflein, 1901 em *Proechimys iheringi* Thomas, 1911 capturados no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):47-53, 1984.

TABELA 3

Valores biométricos de tripanosomo do subgênero *Herpetosoma* observados em *Proechimys iheringi* (n.º 228) em diferentes dias de parasitemia

Medidas	Valores biométricos encontrados (μm)				
	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5
TL	24,9	21,6	23,7	27,4	18,8
PN	20,4	15,1	17,1	16,7	14,7
NA	4,5	6,5	6,6	10,7	4,1
PK	3,7	4,9	5,7	5,7	2,5
KN	16,7	10,2	11,4	11,0	10,6
IN	4,5	2,3	2,6	1,6	3,6
IK	1,2	1,5	1,5	1,5	1,4

TABELA 4

Valores quantitativos (por ml de sangue) de tripomastigotas circulantes observados em roedores encontrados naturalmente infectados, e em roedor experimentalmente infectado

Roedores encontrados naturalmente infectados				Roedor experimentalmente infectado	
<i>P. iheringi</i> (n.º 185)		<i>P. iheringi</i> (n.º 228)		<i>P. iheringi</i> *	
Dias de contagem	Tripomastigotas circulantes x 10 ⁴	Dias de contagem	Tripomastigotas circulantes x 10 ⁴	Dias de contagem	Tripomastigotas circulantes x 10 ⁵
1.º	39	1.º	40	1.º **	40
4.º	41	3.º	36	2.º	31
5.º	48	5.º	39	4.º	37
8.º	37	9.º	28	9.º	25
10.º	08	13.º	37	14.º	31
12.º	07	24.º	80	16.º	23
15.º	06	28.º	35	18.º	19
19.º	13	29.º	36	22.º	19
26.º	05	31.º	29	24.º	16
33.º	06	36.º	12	29.º	11
40.º	07	41.º	11	36.º	7
47.º	03	45.º	9	53.º	2
54.º	03	51.º	4	72.º	zero
68.º	02	65.º	zero	80.º	zero
75.º	01			90.º	zero
82.º	01				

* Animal inoculado com 20 x 10⁴ tripomastigotas no 68.º dia de vida

** Parasitemia patente 45 dias após inoculação.

DISCUSSÃO

As figuras 1 e 2 revelam tripanossomos caracteristicamente pertencentes ao subgênero *Herpetosoma*, com cinetoplasto largo e subterminal e o núcleo ligeiramente deslocado para a porção anterior do corpo do parasita¹⁰.

A variabilidade verificada na determinação dos valores biométricos entre os exemplares estudados (tabela 1) e, em especial, naqueles dos quais estas medidas foram determinadas em diferentes dias de parasitemia (tabelas 2 e 3), pode ser atribuída a variações inerentes ao próprio ciclo do tripanossomídeo, conforme já foi assinalado para o *Trypanosoma (Herpetosoma) mariae*¹². Observações deste tipo indicam a fragilidade da sustentação de descrição de novas espécies deste subgênero com base apenas em características mensurais, reafirmando assim o escrito por DAVIS⁸ que, em estudo realizado com tripanossomos tipo *levisi*, mostrou variações biométricas significantes destes parasitas entre populações de uma mesma espécie hospedeira e variações pouco significantes destes parasitas entre espécies hospedeiras altamente separadas.

Por outro lado, a obtenção da proliferação dos flagelados em meio de Ducrey, modificado pela adição de 2% de sangue de *P. iheringi*, e a positivação da inoculação tão-somente em *P. iheringi* parecem indicar existência de alta especificidade entre esta espécie de roedor e o parasita estudado, o que faz acreditar ser este parâmetro relativamente confiável para a determinação específica de tripanossomos do subgênero *Herpetosoma*.

A negativação dos xenodiagnósticos indica ser pouco provável a participação de triatomíneos no ciclo deste *Trypanosoma*, que

talvez seja transmitido por outros artrópodes hematófagos¹⁰.

Os valores quantitativos de tripomastigotas circulantes, observados em animais encontrados naturalmente infectados, indicam queda da parasitemia para um padrão relativamente mais baixo, porém constante por vários dias, o que parece ser característico para o subgênero *Herpetosoma*¹⁵. O animal experimentalmente infectado revelou valores de tripomastigotas circulantes exponencialmente maiores que os verificados em animais encontrados naturalmente infectados. Estas observações permitem supor baixa patogenicidade destes tripanossomídeos para os seus hospedeiros, já que, em determinado momento, estes chegaram a apresentar altíssimos valores de tripomastigotas circulantes para, poucos dias após, não mais revelaram flagelados circulando no sangue.

Em 1974, PESSÓA¹⁴ relatou o encontro de tripanossomo do subgênero *Herpetosoma* em esfregaço sanguíneo de *Proechimys iheringi* capturado no Estado de São Paulo; porém, baseando-se apenas em caracteres morfológicos, preferiu reconhecer como *Trypanosoma renjfoi* Deane, 1961.

Pelas observações e informações referentes a localização do núcleo, da forma e localização do cinetoplasto, do estudo da parasitemia e biometria e, ainda, pela especificidade da relação parasita-hospedeiro revelada *in vitro* e *in vivo*, os autores acreditam que este tripanossomídeo pertença a espécie do subgênero *Herpetosoma* ainda não descrita.

Agradecimentos

Os autores manifestam-se gratos ao Dr. Marcelo Oswaldo Alves Corrêa, do Instituto Adolfo Lutz, pela sugestão de modificação da fórmula original do meio de Ducrey, através da adição de sangue de *Proechimys iheringi*.

RIALA6/572

TOLEZANO, J. E.; CHIEFFI, P. P.; DIAS, R. M. D. S.; NUNES, E. V.; D'ANDRADE, O. M.; PEREIRA, L. E.; TORRES, D. M. A. G. V. & LUPETTI, N. — *Trypanosoma* of subgenus *Herpetosoma* Doflein, 1901 in *Proechimys iheringi* Thomas, 1911 captured alive in São Paulo State, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):47-53, 1984.

ABSTRACT: The blood of wild rodents captured alive in the field station of Casa Grande, municipality of Salesópolis, State of São Paulo was examined for hemoparasites. Trypanosomas of the subgenus *Herpetosoma* were discovered in the blood of 4 specimens of *Proechimys iheringi*. The parasites showed an average size of 21.7 μ m and an average nuclear index equivalent to 1.9. Attempts to cultivate the trypanosomas in NNN, Lit and Ducrey media failed. However, when Ducrey medium was added 2% of blood of *Proechimys iheringi* there was abundant growth of mastigotes. Inoculation of *Mus musculus*, *Akodon* sp., *Oryzomys* sp. and *Cricetus auratus* were negative; however, inoculation of laboratory-born and reared *Proechimys iheringi* was successful and there was circulation of the parasite in the blood. It is suggested that the parasites isolated belong to a new species considering the behavior and specificity of the subgenus *Herpetosoma* to vertebrate hosts and the characteristics of the isolates.

DESCRIPTORS: *Trypanosoma (Herpetosoma)*; *Proechimys iheringi*.

TOLEZANO, J. E.; CHIEFFI, P. P.; DIAS, R. M. D. S.; NUNES, E. V.; D'ANDRADE, O. M.; PE-
REIRA, L. E.; TORRES, D. M. A. G. V. & LUPETTI, N. — *Trypanosoma* do subgênero *Herpeto-*
soma Doflein, 1901 em *Proechimys iheringi* Thomas, 911 capturados no Estado de São Paulo, Brasil.
Rev. Inst. Adolfo Lutz, 44(1):47-53, 1984.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AÑEZ, N. — Studies on *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920. IV — A reconsideration of its systematic position. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 77:405-15, 1982.
2. ARTIGAS, P. T. & PACHECO, G. — *Trypanosoma myocastor* n. sp. parasita do *Myocastor coypus*. *Ann. Fac. Med. Univ. S. Paulo*, 10:317-8, 1934.
3. BARRETTO, M. P. & RIBEIRO, R. D. — Tripanossomos do subgênero *Herpetosoma* Doflein, 1901 em roedores silvestres, com a descrição de duas novas espécies. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 5.º, Rio de Janeiro, 1980. p. 30. [Resumos de trabalhos]
4. BRENER, Z. — *Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da doença de Chagas*. Belo Horizonte, 1961. p. 21-22. [Tese livre-doc. — Faculdade de Odontologia e Farmácia da Universidade de Minas Gerais]
5. CARINI, A. & MACIEL, J. — Sur une Hémo-grégarine et un Trypanosome d'un muridé (*Akodon fuliginosus*). *Bull. Soc. Pathol. exot.*, 8:165-9, 1915.
6. COUTINHO, J. O. & PATTOLLI, D. — Contribuição para o conhecimento dos tripanosomos de roedores, com a descrição de duas novas espécies. *Pap. avulsos Dep. Zool. (S. Paulo)*, 16:217-27, 1964.
7. D'ALESSANDRO, A. — Biology of *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* Tejera, 1920. In: LUMSDEN, W. H. R. & EVANS, D. A., ed. — *Biology of the Kinetoplastida. A biological monograph*. London, Academic press, 1976. v. 1, p. 328.
8. DAVIS, B. S. apud HOARE, C. — *The Trypanosomes of mammals. A zoological monograph*. Oxford, Blackwell, 1972. p. 214-15.
9. DEANE, L. M. — Tripanosomídeos de mamíferos da região amazônica. 1. Alguns flagelados encontrados no sangue de mamíferos silvestres do Estado do Pará. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 3:15-28, 1961.
10. HOARE, C. A. — *The trypanosomes of mammals. A zoological monograph*. Oxford, Blackwell, 1972. p. 214.
11. MELLO, D. A. — *Trypanosoma (Herpetosoma) mariaae* n. sp., isolated from *Calomys callosus* Rengger, 1830 (Rodentia — Cricetidae). *Ann. Parasitol. Hum. comp.*, 53: 345-50, 1978.
12. MELLO, D. A. — Morphological and biological features of *Trypanosoma (Herpetosoma) mariaae* Mello, 1978 in experimentally infected *Calomys callosus*. *Ann. Parasitol. Hum. comp.*, 57:111-9, 1982.
13. MOLYNEUX, D. H. — Biology of trypanosomes of the subgenus *Herpetosoma*. In: LUMSDEN, W. H. R. & EVANS, D. A., ed. — *Biology of the kinetoplastida*. London, Academic, 1976. v. 1, p. 286.
14. PESSÓA, S. B. — Notas sobre alguns parasitas de ratos silvestres do Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34:82-93, 1974.
15. TARGETT, G. A. T. & VIENS, P. — Immunity to *Trypanosoma (Herpetosoma)*. Infections in rodents. In: LUMSDEN, W. H. R. & EVANS, D. A., ed. — *Biology of the kinetoplastida*. London, Academic press, 1979. v. 2, p. 462-3.

Recebido para publicação em 12 de dezembro de 1983.

RV-IAL, NOVA LINHAGEM CELULAR DE RIM DE VITelo.
CARACTERÍSTICAS E SUSCEPTIBILIDADE A
ALGUNS VÍRUS *

Aurea S. CRUZ **
Mary E. SAKUMA **
Clélia H. MARTINEZ **

RIALA6/573

CRUZ, A. S.; SAKUMA, M. E. & MARTINEZ, C. H. — RV-IAL, nova linhagem celular de rim de vitelo. Características e susceptibilidade a alguns vírus. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):55-59, 1984.

RESUMO: Foi isolada nova linhagem celular de rim de vitelo, a qual vem sendo cultivada há mais de 3 anos. Os testes de susceptibilidade celular frente aos vírus do herpes simples (*Herpesvirus hominis*) tipo 1, sarampo, vacínia, rubéola, vírus da estomatite vesicular, varíola bovina, poliovírus tipo 1, vírus Ilhéus, e o teste da sensibilidade, comparada com a de outras culturas celulares, tais como Vero, HEP₂, Av₁₉, BHK-21 e RC-IAL, revelam que a cultura RV-IAL pode ser utilizada para estudos virológicos em seres humanos e em animais, e nas pesquisas com interferon. Morfológicamente esta linhagem tem aparência fibroblástica com discretas alterações, desde o início do cultivo. O maior índice de multiplicação foi obtido entre os 4.^o e 6.^o dias de crescimento. Análises cromossômicas feitas entre as passagens 50-55 indicam que esta linhagem, inicialmente diplóide, tornou-se heteroplóide.

DESCRITORES: célula, isolamento; linhagem celular de rim de vitelo (RV-IAL), susceptibilidade a vírus; vírus, cultivo em cultura de células de rim de vitelo (RV-IAL).

INTRODUÇÃO

As células primárias de rim de vitelo têm sido empregadas para estudos de vírus bovinos^{1, 5, 12} e vírus humanos^{5, 6, 12}, havendo pois interesse no estabelecimento de linhagens permanentes destas células.

Neste trabalho apresentamos nova linhagem celular de rim de vitelo com aparência fibroblástica, a qual designamos como RV-IAL (Instituto Adolfo Lutz), seguida de suas características, comportamento *in vitro* e susceptibilidade para alguns vírus humanos e animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Cultura primária

Rim de vitelo de 7 dias, colhido assepticamente após a sangria do animal, foi colocado em solução salina tamponada, pH 7,5, com antibióticos (100 U.I. de penicilina e 100 µg de estreptomicina/ml). Depois de limpo, foi retalhado e colocado em Meio Mínimo de Eagle em solução salina balanceada de Earle (MME), suplementado com 10% de soro de vitelo (SV)⁴ inativado, com antibióticos. Após 24 horas, o rim foi picado e lavado 3 vezes com solução salina tamponada com

* Realizado na Seção de Culturas Celulares do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

antibióticos. A tripsinização foi efetuada pelo método de Youngner⁷. As células foram suspensas em MME com 10% SV, na concentração de 5×10^5 células/ml, semeadas em frascos apropriados para culturas de células, e incubadas a 36 °C até formarem camada celular confluenta.

Cultura secundária

A primeira subcultura foi feita no 15.º dia, sendo que para a dispersão do tapete de células foi utilizada uma associação de tripsina a 0,20% e Versene, a 0,02%⁷. As células foram ressuspensas em MME com 10% de SV, semeadas em frascos de culturas de células e incubadas a 36 °C, por um período de 7 dias. As passagens seguintes foram feitas em intervalos semanais, na proporção de 1:2.

Congelamento celular — Células RV-IAL foram ressuspensas em MME com 10% de SV, contendo 5% de glicerol. A suspensão celular foi estocada, tanto em congelador a -70 °C, como em nitrogênio líquido, a -196 °C.

Curva de crescimento — Em intervalos de 24 horas, durante o período de 8 dias consecutivos, fez-se a contagem de células de 3 tubos de ensaio, utilizando-se a câmara de Neubauer. A partir do número de células contadas em cada tubo, calculou-se a média que foi utilizada para a elaboração da curva de crescimento. Este estudo foi realizado na 38.ª passagem, e todos os tubos foram semeados no mesmo dia, sem nenhuma troca de meio durante os dias de contagem.

Cariótipo — Para as análises cromossômicas, tubos com lamínulas foram semeados com 1×10^5 a 2×10^5 de células/ml. A técnica utilizada foi a mesma descrita por TJJO & PUCK¹¹, com modificações na solução hipotônica (KCL 0,075 M), no fixador (álcool metílico e ácido acético glacial na proporção de 3:1) e no corante usado, que foi o Giemsa, em solução-tampão de fosfato. As placas metafásicas foram observadas com a objetiva de imersão.

Susceptibilidade viral — As amostras de vírus utilizadas para testar a susceptibilidade das células RV-IAL foram: vírus da rubéola, amostra Westpoint, adaptado a células BHK-21; vírus da vacina do sarampo, amostra Edmonston, adaptado a células Vero; vírus do herpes simples tipo 1, amostra McIntyre, adaptado a células Vero; vírus da vacina usado na vacina antivariólica, amostra fornecida pelo Instituto Butantan, São Paulo, Brasil, adaptado a células Sirc; vírus da varíola bovina (*cow-pox*), amostra obtida no "Center for Disease Control", Atlanta, Georgia, EUA, adaptado a células Sirc; vírus da estomatite vesicular do bovino, amostra fornecida pelo Instituto Biológico, São Paulo, Brasil, adaptada a células BHK-21; vírus Ilhéus, mantido em camundongos e adaptado a células Vero; e vírus

da pólio tipo 1, amostra Mahoney, obtida no "Center for Diseases Control", adaptado a células Vero.

Tubos de células RV-IAL, com suspensão celular de 200.000 células/ml de MME com 10% SV, foram usados para inocular os vírus acima citados. O meio de crescimento foi desprezado e 0,1 ml de cada uma das amostras de vírus contendo 100 DICT 50% foi inoculado, os tubos foram incubados a 37 °C, por 30 minutos, para adsorção viral. Em seguida, foi adicionado o meio de manutenção (MME com 5% SV), as culturas foram incubadas a 37 °C, e observadas diariamente até a leitura final aos 6-7 dias de incubação.

Foram feitas, ainda, titulações com o vírus da estomatite vesicular bovina, a fim de se comparar a sensibilidade da linhagem RV-IAL com a de outras culturas celulares, tais como: Av., Vero, HEp₂, RC-IAL e BHK-21. Para o cálculo dos títulos usou-se o método de Reed-Muench⁷.

RESULTADOS

As células RV-IAL vêm sendo cultivadas há 3 anos, sem nenhuma mudança no meio utilizado desde a sua cultura primária. Inicialmente eram necessários 7 dias para se formar uma camada confluenta com repiques de 1:2; atualmente, são necessários de 4 a 5 dias, com repiques de 1:3. Este fato foi comprovado pelo estudo da curva de crescimento que indica que o maior índice de multiplicação se dá em torno do 4.º ao 6.º dias de cultivo, chegando a quadruplicar o número de células iniciais (fig. 1).

As únicas alterações morfológicas nas células foram observadas durante as primeiras passagens em que apresentavam a aparência de fibroblasto logo no início do cultivo, isto é, após 24 horas de semeadas no frasco de cultura. Entretanto, na 10.ª passagem, as células apresentaram mudanças, pois em 24 horas de cultivo, apresentavam-se bem maiores em tamanho, e de forma arredondada quando comparadas às células das primeiras passagens; todavia, no decorrer do crescimento, tornavam-se novamente finas e alongadas, com a típica aparência de fibroblasto (fig. 2).

De acordo com as análises cromossômicas feitas entre as passagens 50-55, a cultura RV-IAL mostrou-se heteroplóide, com um número modal de 54 cromossomos (o número de cromossomos da espécie *Bos taurus* é $2n = 60$), conforme a figura.

Quanto à viabilidade celular, após o congelamento, esta linhagem mostrou-se resistente a baixas temperaturas, pois após 18 meses, a -196 °C, apresentou viabilidade de 90% e, após 3 meses, a -70 °C, apresentou também viabilidade de 90%.

A susceptibilidade da linhagem RV-IAL aos vírus experimentados está indicada na tabela 2.

Dos oito vírus usados, somente cinco causaram efeito citopático nas células RV-IAL, com algumas diferenças entre eles. Assim, o vírus do herpes simples tipo 1 (fig. 3) e o vírus da estomatite vesicular bovina

causaram efeito citopático positivo (++++) antes de completar 24 horas de incubação célula-vírus. O vírus da vacínia apresentou efeito positivo (++++), com 48 horas de incubação célula-vírus (fig. 4), o vírus Ilhéus e o vírus da variola bovina (*cow-pox*) apresentaram também efeito positivo (++++) após 48 horas de incubação célula-vírus (fig. 5). Não foram

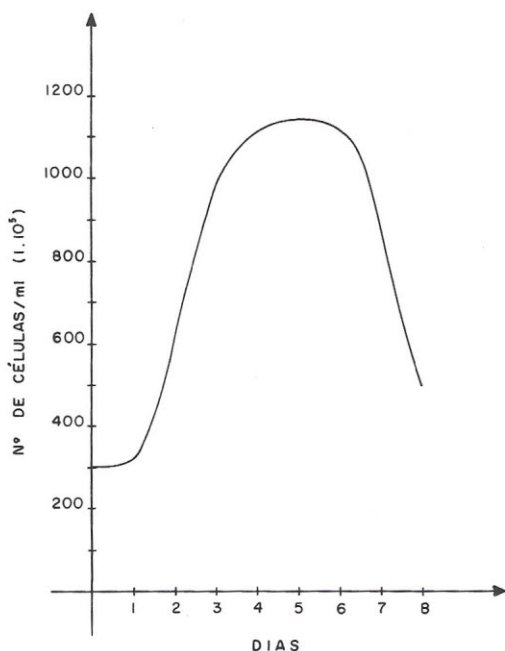


FIGURA 1 — Curva de crescimento da linhagem celular RV-IAL.

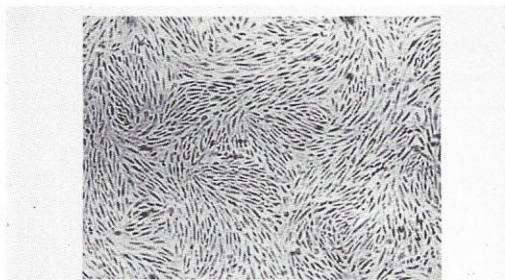


FIGURA 2 — Células RV-IAL não inoculadas.

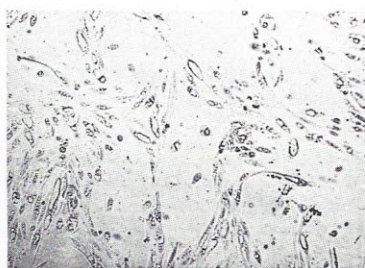


FIGURA 3 — Células RV-IAL inoculadas com o vírus do herpes simples, tipo 1.

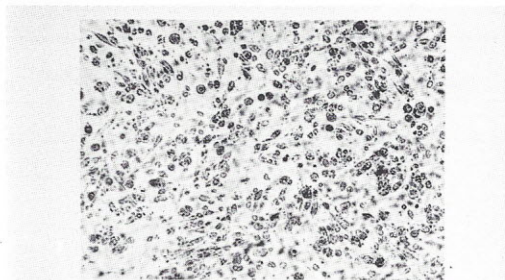


FIGURA 4 — Células RV-IAL inoculadas com o vírus da vacínia.

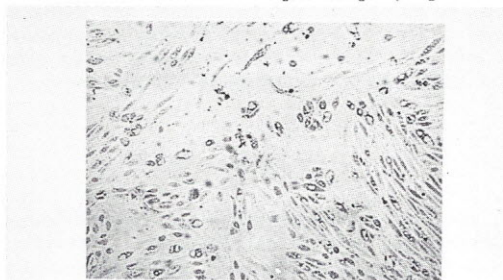


FIGURA 5 — Células RV-IAL inoculadas com o vírus da variola bovina (*cow pox*).

observados efeitos citopáticos nas células inoculadas com os vírus da rubéola, sarampo, ou poliovírus tipo 1. É importante ressaltar que não houve nenhuma adaptação anterior destes vírus à linhagem RV-IAL, e que não foi feita qualquer passagem cega nestas células para verificação de posterior efeito citopático. Também não foi estudado, pela imunofluorescência, se houve crescimento ou não dos vírus que não causaram efeito citopático.

A comparação do título do vírus da estomatite vesicular, na cultura celular RV-IAL, com o de outras culturas celulares está indicada na tabela 3, onde se pode observar que as células RV-IAL são mais sensíveis que as células Av₃, e HEp₂, igualmente sensíveis às células RC-IAL, e menos sensíveis que as células BHK-21 e Vero.

DISCUSSÃO

Segundo a literatura, a maioria das células bovinas isoladas em diferentes laboratórios passou por uma fase de crescimento mais lento^{3, 5, 6} e por algumas mudanças morfológicas^{6, 8, 10}, variando de fibroblasto para epitelial, e de epitelial para fibroblasto. A única célula que não apresentou alterações foi a da linhagem epitelial isolada por BRION & GRUEST². Este é um achado importante, pois o mesmo aconteceu às células RV-IAL que não apresentaram modificações tão evidentes na sua morfologia. Quanto ao seu crescimento, todas as linhagens bovinas tiveram um período em que o crescimento era mais lento; este fato também ocorreu com a cultura RV-IAL, por volta da 15.^a passagem, pois levava quase 15 dias para se formar a camada confluenta, com repiques de 1:1. Talvez tenha sido nesta fase de crescimento mais lento que a cultura se tenha estabelecido.

A nova linhagem é mantida sem antibióticos, e o exame pela microscopia eletrônica revelou que estas células são livres de partículas virais ou de qualquer outro contaminante.

A susceptibilidade frente aos vírus testados e a comparação com outras culturas indicam que a linhagem RV-IAL pode ser utilizada em virologia humana e animal e, possivelmente, apresenta outras potencialidades como na produção de interferon, vacinas etc.

Agradecimento

Ao Dr. Luís Florêncio de Salles Gomes, Diretor do Serviço de Virologia do Instituto Adolfo Lutz, por idéias e sugestões recebidas durante a realização deste trabalho, e ao Sr. José Ferreira Santana, pela colheita do rim no matadouro.

TABELA 1

Frequência do número de cromossomos em 40 células

N.º de células	N.º de cromossomos por célula
5	38
9	47
3	50
10	54
5	57
4	60
4	62

TABELA 2

Susceptibilidade das células RV-IAL aos vírus indicados

Vírus (100 DICT 50%)	Efeito citopático
Estomatite vesicular bovina	+
herpes simples tipo 1	+
varíola bovina	+
vacínia	+
Ilhéus	+
sarampo	-
rubéola	-
pólio tipo 1	-

(+) = susceptível

(-) = não susceptível

TABELA 3

Sensibilidade de linhagens celulares ao vírus da estomatite vesicular bovina

Linhagens celulares	Título do vírus (log ₁₀)
HEP ₂	2,00
Av ₃	2,50
RV-IAL	3,23
RC-IAL	3,50
BHK-21	4,77
Vero	5,33

RIALA6/573

CRUZ, A. S.; SAKUMA, M. E. & MARTINEZ, C. H. — RV-IAL, a new cell line of calf kidney. Characteristics and susceptibility to some virus. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):55-59, 1984.

ABSTRACT: A new cell line of calf kidney was isolated and has been cultivated for the last three years. The new line has fibroblast-like appearance with slight alterations since isolation. Cell multiplication index is higher between the 4th and 6th days of growth. Chromosomic analysis of passages ns. 50 to 55 indicated that the initially diploid cells became heteroploids. The new line showed itself to be capable of supporting the growth of the viruses tipe 1 herpes simplex, vaccinia, vesicular stomatitis, cow-pox and Ithéus virus. Comparison of these results with those obtained with cell lines such as AV₃, Vero, HEP₂, BHK-21 and RC-IAL disclosed that the new cell line is adequate for virus studies.

DESCRIPTORS: cell, isolation; cell line, calf kidney cell, susceptibility to virus; virus, cultivation in calf kidney cell culture.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGUILAR-SETIÉN, A.; PASTORET, P. P.; BURTONBOY, G.; JETTEUR, P.; KAEC-KENBEECK, A. & SCHOENAERS, P. — Susceptibility of various cell lines to the cytopathic effect of a strain of bovine papular stomatitis virus. *Ann. Med. Vet.*, 123:333-8, 1979.
2. BRION, G. & GRUEST, J. — Isolement et amintien *in vitro* d'une souche essentiellement constitués de cellules épithéliales et obtenue a partir d'une rein de bovidé. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)*, 92:426-9, 1957.
3. CORIA, M. P. — Cell cultures of bovine embryonic skin: growth and characterization. *Am. J. Vet. Res.*, 30:369-75, 1969.
4. EAGLE, H. — Amino acid metabolism in mammalian cell cultures. *Science (Wash.)*, 130:432-7, 1959.
5. FERRIS, R. D. & PLOWRIGHT, W. — The serial cultivation of calf kidney cells for use in virus research. *Res. Vet.-Sci.*, 2: 337-95, 1961.
6. KIMURA, S.; FUKUI, K.; YOSHIDA, N. & MATSUBARA, Y. — A new cell line of calf kidney and its susceptibility to viruses. *Jap. J. Microbiol.*, 12:293-8, 1968.
7. LENNETTE, E. H. & SCHMIDT, N. J., ed. — *Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections*. 5.^a ed. Washington, D. C., APHA, c1979. 1138 p.
8. MADIN, S. H. & DARBY, N. B., Jr. — Established kidney cell lines of normal adult bovine and ovine origin. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 98:574-6, 1958.
9. PAUL, J. R. — *Cell and tissue culture*. 5th ed. Edinburg, Churchill Livingstone, 1975. 484 p.
10. ROSSI, C. R. & KIESEL, G. K. — Establishment of the AU-BEK cell line and comparison with two other bovine cell lines. *In vitro (Rockville)*, 9:147-55, 1973.
11. TJIO, J. H. & PUCK, T. T. — Genetics of somatic mammalian cells. II. Chromosomal constitution of cells in tissue culture. *J. exp. Med.*, 108:259-68, 1958.
12. WARREN, J. & CUTCHINS, E. C. — General characteristics and viral susceptibility of bovine embryonic tissue cultures. *Virology*, 4:297-304, 1957.

Recebido para publicação em 4 de janeiro de 1984.

FREQÜÊNCIA DE AMEBAS DE VIDA LIVRE EM FEZES DE INDIVÍDUOS DE UMA CRECHE DA CIDADE DE SÃO PAULO *

Sylvia Amaral Gurgel VELLOSA **
Ana Célia Steffen MANGINI **
Lucília dos Reis NUNES **
Antonella Godano SCHLODTMANN **

RIALA6/574

VELLOSA, S. A. G.; MANGINI, A. C. S.; NUNES, L. R. & SCHLODTMANN, A. G. — Freqüência de amebas de vida livre em fezes de indivíduos de uma creche da cidade de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44:61-65, 1984.

RESUMO: A ocorrência de amebas de vida livre foi pesquisada em 90 amostras de fezes de indivíduos pertencentes a uma creche da cidade de São Paulo. As amostras foram semeadas em placas de Petri contendo ágar não nutriente, ou ágar não nutriente — sal, com um tapete de *Enterobacter aerogenes*, morto pelo calor. As placas foram incubadas a temperaturas de 28, 37 e 40 °C, e observadas diariamente durante sete dias. A positividade foi de 22,71% em 66 crianças, e de 8,33% em 24 adultos. Foram isoladas 21 amostras do gênero *Acanthamoeba*, 4 de *Naegleria*, 1 de *Echinamoeba*, e 12 de amebídeos não identificados. Foram examinadas mais 3 amostras fecais de cada indivíduo com exame positivo, com intervalo de um mês entre as coletas. Amostras de *Acanthamoeba* sp. foram reisoladas em dois indivíduos, o que nos leva a supor que amebídeos estavam sendo por eles albergados, e não em simples trânsito intestinal.

DESCRIPTORIOS: amebas de vida livre em fezes humanas, freqüência: *Acanthamoeba*, sp.; *Naegleria* sp.

INTRODUÇÃO

Desde o final do século passado, vários autores constataram a presença de amebas de vida livre em fezes humanas. Assim, na revisão bibliográfica de WILLAERT¹², encontramos menção ao encontro de *Naegleria gruberi* em fezes humanas diarréicas em estudo de Schardinger, em 1899. Mais recentemente, JADIM *et alii*³ (1973) e GRIFFIN² (1978) isolaram *Acanthamoeba* sp. em amostras de fezes, na maioria pertencentes a crianças com diarreia.

No Brasil, PINTO⁹ (1922) descreve o encontro de amebas, provavelmente do gênero *Naegleria*, em fezes humanas diarréicas. PESSÓA & MARTINS⁸, em 1978, faz referência ao encontro de *Acanthamoeba* sp. em

fezes e urina humanas. MOURA *et alii*⁵ (1983), cultivando fezes de 106 indivíduos residentes em uma comunidade fechada, encontraram 15 (14%) casos positivos para amebas de vida livre, tendo sido isolados representantes dos gêneros *Acanthamoeba*, *Hartmanella* e *Vahlkampfia*. MOURA *et alii*⁶ (1983), a partir de 514 amostras de fezes de pacientes do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual do Rio de Janeiro, encontraram 55 (10,7%) casos positivos para amebas de vida livre, tendo sido isoladas 55 amostras de *Acanthamoeba*, 3 de *Vahlkampfia* e 1 de *Echinamoeba*.

Nosso objetivo foi o de pesquisar a ocorrência de amebas de vida livre em fezes de indivíduos pertencentes a uma creche da cidade de São Paulo.

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

MATERIAL E MÉTODOS

No período março/abril de 1983, foram examinadas amostras de fezes de todos os indivíduos pertencentes a uma creche da cidade de São Paulo. Faziam parte desta instituição 90 pessoas: 66 crianças de até seis anos de idade, e 24 adultos. Dos indivíduos que apresentaram resultado positivo no cultivo de amebas de vida livre foram colhidas mais 3 amostras, com intervalo de um mês entre as coletas. Ao todo, foram examinadas 119 amostras, sendo 92 pertencentes a crianças e 26 a adultos.

As fezes foram mantidas à temperatura ambiente e processadas até 24 horas após a colheita.

Aproximadamente 10 g de fezes foram homogeneizadas em água destilada, estéril, até adquirirem consistência semipastosa. Este material foi semeado no centro de três placas de Petri contendo meio de ágar não nutritivo a 1,5%, em água destilada, recoberto com tapete de *Enterobacter aerogenes* morto pelo calor (ANNE) e em uma placa contendo meio de ANNE — sal. As placas de ANNE foram incubadas a temperaturas de 28, 37 e 40 °C, e a de ANNE — sal, a 37 °C, por um período de 7 dias. No preparo do meio ANNE — sal, foi substituída a água destilada, utilizada no meio anterior, por salina a 0,85%. A suspensão de *E. aerogenes*, preconizada por SING¹⁰, foi preparada seguindo-se a técnica descrita por ANDERSON & JAMIESON¹. A turvação da suspensão foi igual à do tubo n.º 7 da escala de Mac Farland⁴.

Diariamente procedeu-se à observação direta das placas, com auxílio de microscópio invertido, com aumento de 130 vezes. Pequenos

nos fragmentos de ágar das placas positivas, retirados de pontos distantes do local da semeadura, foram transferidos para outras placas, com o intuito de se obter clonagem das amebas. Para identificação das amebas clonadas foi adotado o critério de PAGE⁷.

RESULTADOS

O cultivo de fezes foi positivo em 15 crianças e em 2 adultos. Os resultados obtidos nas culturas de fezes estão contidos na tabela 1. A tabela 2 apresenta a distribuição dos diferentes amebídeos isolados nos meios de ANNE, e ANNE — sal, assim como as respectivas temperaturas de incubação. Dos 17 indivíduos que apresentaram resultados positivos foram colhidas mais 29 amostras. Destas, 9 também se mostraram positivas, nem sempre para as mesmas amebas isoladas na primeira colheita, conforme se observa na tabela 3.

TABELA 1

Resultados das culturas de fezes para amebas de vida livre em crianças e adultos

Cultura de fezes	Crianças	Adultos
Positiva	15 (22,71%)	2 (8,33%)
Negativa	51 (77,29%)	22 (91,67%)
Total	66 (100%)	24 (100%)

$$\chi^2 = 1,53 \text{ (valor crítico} = 3,8)$$

TABELA 2

*Distribuição dos amebídeos isolados, segundo temperatura de incubação e meio empregado**

Gênero	Temperatura e meio	37 °C		Total	
		28 °C	ANNE		ANNE-sal
<i>Acanthamoeba</i>		12	4	5	21
<i>Naegleria</i>		2	1	1	4
<i>Echinamoeba</i>		1	—	—	1
Amebídeos não identificados		9	2	1	12
Total		24	7	7	38

* Não houve crescimento no meio ANNE incubado a 40 °C.

(—) Não houve crescimento

TABELA 3

Isolamento de amebas de vida livre, segundo a amostra cultivada

Indivíduo n.º	Identificação *		
	1.ª amostra	2.ª amostra	3.ª amostra
1	<i>Acanthamoeba</i> sp.	cultura negativa	—
2	<i>Acanthamoeba</i> sp.	N.I.	cultura negativa
3 **	<i>Acanthamoeba</i> sp.	cultura negativa	<i>Acanthamoeba</i> sp.
4	N.I.	<i>Acanthamoeba</i> sp. <i>Naegleria</i> sp.	cultura negativa
8	N.I.	<i>Acanthamoeba</i> sp.	cultura negativa
16	<i>Acanthamoeba</i> sp. N.I.	<i>Echinamoeba</i> sp.	N.I.
18	<i>Acanthamoeba</i> sp.	cultura negativa	<i>Acanthamoeba</i> sp.
28	<i>Acanthamoeba</i> sp.	cultura negativa	—
36	N.I.	cultura negativa	—
56	<i>Acanthamoeba</i> sp.	cultura negativa	cultura negativa
59	N.I.	cultura negativa	—
68	N.I.	cultura negativa	N.I.
78	<i>Acanthamoeba</i> sp. N.I.	cultura negativa	N.I.
80	<i>Acanthamoeba</i> sp.	cultura negativa	—
83	<i>Naegleria</i> sp.	cultura negativa	—
88	<i>Acanthamoeba</i> sp.	cultura negativa	cultura negativa
90	N.I.	cultura negativa	—

* Não houve crescimento na 4.ª amostra.

N.I. Amebídeos não identificados.

** Amebas isoladas em diferentes temperaturas (1.ª amostra a 28 °C e 3.ª amostra a 37 °C).

(—) Cultura não realizada.

DISCUSSÃO

Verificou-se que 22,71% das crianças e 8,33% dos adultos apresentavam amebídeos de vida livre nas fezes. Empregando-se o teste de χ^2 , com correção de continuidade, a diferença de ocorrência encontrada entre crianças e adultos resulta não significativa.

Das fezes de dois indivíduos foram isoladas *Acanthamoeba* sp. nas 1.ª e 3.ª amostras colhidas com mais de 30 dias de intervalo.

MOURA *et alii*⁵ sugerem que o encontro repetido de amebas de vida livre em fezes pode indicar eventual colonização do tubo digestivo ou do trato respiratório superior, por esses amebídeos, e não apenas simples passagem pelo trato digestivo. Segundo VIVESVARA¹¹, infecções inaparentes por *Acanthamoeba* sp. podem existir na natureza. A presença de anticorpos específicos foi demonstrada em pacientes com distúrbios das vias aéreas superiores, ou gastrintestinais por Eldridge & Tobim, em 1967, e por Kenney,

em 1971, ainda segundo citação de VIVES-VARA¹¹.

No isolamento das amebas, a temperatura de incubação de 28 °C, em meio ANNE, mostrou-se mais eficiente do que a de 37 °C. A 40 °C não foi verificado o crescimento de nenhuma amostra (tab. 2).

Foram isoladas 21 amostras do gênero *Acanthamoeba*, 2 do gênero *Naegleria*, 1 de *Echinamoeba*, e 12 de amebídeos não identificados, de 17 indivíduos cujas fezes foram examinadas, conforme mostra a tabela 3. Nas

12 amostras em que não foi possível identificar o gênero das amebas isoladas, conseguiu-se, todavia, descartar a presença de *Acanthamoeba* sp. e de *Naegleria* sp.

Entre os amebídeos isolados, *Acanthamoeba* sp. e *Naegleria* sp. representam os gêneros de maior interesse epidemiológico, por serem potencialmente patogênicos para o homem, segundo o estado atual dos conhecimentos vigentes sobre os amebídeos de vida livre.

O estudo da patogenicidade das amostras de *Acanthamoeba* sp. será objeto de outra publicação.

RIALA6/574

VELLOSA, S. A. G.; MANGINI, A. C. S.; NUNES, L. R. & SCHLODTMANN, A. G. — Frequency of free-living amebas in the feces of persons from a nursery in São Paulo City. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):61-65, 1984.

ABSTRACT: The occurrence of free-living amebas was searched for in 90 feces from persons belonging to a nursery from São Paulo City. The specimens were inoculated on Petri dishes with non-nutrient agar (ANNE) or non-nutrient agar with saline coated with heat-killed *Enterobacter aerogenes*. Plates were incubated at 28, 37 and 40 °C and observed daily for 7 days. Growth was obtained in 22.71% of stools from 66 infants and in 8.33% of stools from 24 adults. Isolates included 21 strains of *Acanthamoeba* sp., 4 strains of *Naegleria* sp. and 1 strain of *Echinamoeba* sp. and 12 amebids which were not identified. Three additional feces were tested in each positive individual at monthly intervals between feces specimens. Strains of *Acanthamoeba* sp. were reisolated from two individuals, this suggesting that these amebids were actually harbored and not in simple transit through the intestine.

DESCRIPTORS: free-living amebas in feces, frequency; *Acanthamoeba* sp.; *Naegleria* sp.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSON, K. & JAMIESON, A. — Bacterial suspensions for the growth of *Naegleria* species. *Pathology*, 6:79-84, 1974.
2. GRIFFIN, J. L. — Pathogenic free-living amoebae. In: KREIER, J. P., ed. — *Parasitic protozoa*. v. II: *Intestinal flagellates, histomonads, trichomonads, amoeba, opalinids, and ciliates*. New York, Academic press., 1978. v. 2, p. 507-49.
3. JADIM, J. B.; WILLAERT, E. & HERMANNE, J. — Présence d'amibes limax dans l'intestin de l'homme et des animaux. *Bull. Séances, Bruxelles*, 3:520-6, 1973. [Reprint]
4. LIMA, A. O.; SOARES, J. B.; GRECO, J. B.; GALIZZI, J. & CANÇADO, J. R. — *Métodos de laboratório aplicados à clínica*. 4.^a ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1977. 243 p.
5. MOURA, H.; SALAZAR, H. C.; FERNANDES, O. & LISBOA, D. C. — Isolamento de amebas de vida livre em fezes de indivíduos residentes em comunidade fechada. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 19.^o, Rio de Janeiro, 1983, p. 113 [Programas e resumos]
6. MOURA, H.; SALAZAR, H. C.; LISBOA, D. C. & FERNANDES, O. — Amebas de vida livre em fezes humanas. In: CONGRESSO DE LA FEDERACION LATINO-AMERICANA DE PARASITÓLOGOS, 6.^o, São Paulo, 1983 [Resumos]
7. PAGE, F. C. — An illustrated key to freshwater and soil amoebae. With notes on cultivation and ecology. *Freshwater biol. Assoc. Sci. publ.*, 34:1-155, 1976.
8. PESSÓA, S. B. & MARTINS, A. V. — *Pessoa parasitologia médica*. 10.^a ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1977. p. 256-61.
9. PINTO, C. — Sobre uma amoeba do gênero *Vahlkampfia* encontrada no homem. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 15:122-6, 1922.

VELLOSA, S. A. G.; MANGINI, A. C. S.; NUNES, L. R. & SCHLODTMANN, A. G. — Freqüência de amebas de vida livre em fezes de indivíduos de uma creche da cidade de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):61-65, 1984.

10. SING, B. N. — Selectivity in bacterial food by soil amoebae in pure mixed culture and in sterilized soil. *Ann. Appl. Biol.*, 28:56-1941.
11. VISVESVARA, G. S. — The public health importance and disease potential of small free-living amoebae. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE BIOLOGY AND PATHOGENICITY OF SMALL FREE-LIVING AMOEBAE, 2nd, Gainesville, Florida, 1980. p. 28-45 [*Papers*, s.n.t.]
12. WILLAERT, E. — *Étude immuno-taxonomique des genres Naegleria et Acanthamoeba (Protozoa: Amoebida)*, Lille, 1975. [Tese — Faculté des Sciences de l'Université de Lille] *Acta Zool. Pathol.*, 65:1-239, 1976.

Recebido para publicação em 5 de janeiro de 1984.

AMEBAS DE VIDA LIVRE (*NAEGLERIA* SP. E *ACANTHAMOEBA* SP.)
ISOLADAS DE FEZES HUMANAS: PATOGENICIDADE
PARA CAMUNDONGOS *

Sylvia Amaral Gurgel VELLOSA **
Antonella Godano SCHLODTMANN **
Venâncio Avancini Ferreira ALVES ***
Ana Célia Steffen MANGINI **

RIALA6/575

VELLOSA, S. A. G.; SCHLODTMANN, A. G.; ALVES, V. A. F. & MANGINI, A. C. S. — Amebas de vida livre (*Naegleria* sp. e *Acanthamoeba* sp.) isoladas de fezes humanas: patogenicidade para camundongos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1): 67-72, 1984.

RESUMO: Foram inoculadas, em lotes de 5 camundongos albinos de 10 a 12 g, 15 amostras de *Acanthamoeba* sp., 2 amostras de culturas mistas de *Acanthamoeba* sp. e *Naegleria* sp. e uma amostra de *Naegleria* sp. As amebas foram isoladas a partir de fezes de indivíduos pertencentes a uma creche da cidade de São Paulo. Os camundongos foram ligeiramente anestesiados com éter etílico e receberam, por via nasal, 0,04 ml de uma suspensão de amebas na concentração de 3×10^5 a 8×10^6 trofozoítas por ml. Seis camundongos morreram espontaneamente e os restantes foram sacrificados após 30 dias de observação. Macerados de cérebro, baço e pulmão foram repicados em placas de Petri contendo ágar não nutriente e ágar não nutriente-sal, com tapete de *Aerobacter aerogenes* morto pelo calor. Subseqüentemente as placas foram incubadas às temperaturas de 28 e 37 °C e observadas por 10 dias. Constatou-se a patogenicidade de 4 amostras de *Acanthamoeba* sp e de uma amostra de cultura mista de *Acanthamoeba* sp e *Naegleria* sp. Alguns dos fragmentos teciduais não macerados foram analisados histopatologicamente, revelando-se processo inflamatório com predomínio de linfócitos, plasmócitos e histiócitos, caracterizando-se, em alguns focos, a presença de amebas de vida livre.

DESCRITORES: amebas de vida livre, isolamento de fezes humanas; *Naegleria* sp., *Acanthamoeba* sp., patogenicidade em camundongos (estudo experimental).

INTRODUÇÃO

A importância etiológica de amebas de vida livre na morbidade por meningites e meningoencefalites já foi definitivamente demonstrada 4, 8, 9, 10, 12.

Infecções cerebrais por *Acanthamoeba* são geralmente descritas como meningoencefalite subaguda ou crônica, por vezes de padrão granulomatoso, podendo resultar em óbito do paciente após 8 dias ou em até vários meses

de evolução 3. A maioria dos casos de meningoencefalite granulomatosa ocorre em imunodeprimidos, alcoólatras, diabéticos ou em outra forma de doença debilitante.

A meningoencefalite por *Naegleria* sp. atinge, preferencialmente, crianças ou adultos jovens, saudáveis, com antecedentes de contato com águas de piscina, lagos ou rios. Um quadro de meningoencefalite fulminante é observado, resultando em óbito em menos de uma semana.

* Realizado no Serviço de Parasitologia e na Divisão de Patologia do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, SP.

** Do Serviço de Parasitologia.

*** Da Divisão de Patologia.

A presença de anticorpos específicos em pacientes com distúrbios das vias aéreas superiores ou gastrintestinais, e a alta prevalência de amebas de vida livre em crianças, sugerem a existência de infecções inaparentes por *Acanthamoeba* sp. e *Naegleria* sp.^{7,9}.

O objetivo do presente trabalho foi pesquisar a patogenicidade, em camundongos, das amebas de vida livre pertencentes aos referidos gêneros, isoladas de fezes de indivíduos aparentemente saudáveis.

MATERIAL E MÉTODOS

A patogenicidade de amebas de vida livre, isoladas a partir de fezes humanas, foi testada em camundongos, modelo animal que mimetiza as condições humanas.

Foram empregadas 15 amostras pertencentes ao gênero *Acanthamoeba*, uma pertencente ao gênero *Naegleria* e 2 culturas mistas dos gêneros *Acanthamoeba* e *Naegleria* isoladas a partir de fezes de indivíduos pertencentes a uma creche da cidade de São Paulo¹¹. As amebas foram mantidas em meio de ágar não nutritivo a 1,5%, em água destilada, recoberto por tapete de *Enterobacter aerogenes* (CDC1535) morto pelo calor (ANNE), conforme técnica descrita por ANDERSON & JAMIESON¹.

Para o preparo da suspensão a ser inoculada, o crescimento das amebas foi estimulado pelo repique em cinco placas contendo ANNE. Estas placas foram incubadas por 24 horas em temperatura correspondente à do isolamento da amostra. A concentração do inóculo foi ajustada entre 3×10^5 e 8×10^6 trofozoítas por ml, através de contagem em câmara de Neubauer.

Foram inoculados 5 camundongos albinos, de 10 a 12 g de peso, para cada amostra testada. Os animais foram previamente anestesiados pelo éter etílico. Procedeu-se à inoculação depositando-se 0,04 ml de suspensão em suas narinas, segundo técnica preconizada por MARTINEZ *et alii*². Os camundongos pertencentes ao grupo-testemunha receberam 0,04 ml de água destilada estéril. Foi utilizado, ainda, outro grupo de camundongos que foram inoculados por via nasal com 0,04 ml de suspensão de *Acanthamoeba* sp. (cepa F415) patogênica para camundongos, fornecida pelo Dr. Hércules de Moura, do Departamento de Parasitologia e Laboratórios da Universidade Estadual do Rio de Janeiro. Todos os animais foram observados por um período de 30 dias.

Macerados de cérebro, baço e pulmão dos camundongos inoculados foram semeados no centro de duas placas contendo ANNE e em uma contendo ANNE mais 0,85% de cloreto de sódio (ANNE — sal). As placas de ANNE foram incubadas a 28 e 37 °C

durante 10 dias, e a de ANNE — sal, a 37 °C, pelo mesmo período. A observação direta das placas foi feita com auxílio de microscópio invertido, com aumento de 130 vezes. Amebas foram reisoladas de pontos distantes do local de semeadura, e a identificação morfológica foi processada segundo critério de PAGE⁷.

Considerou-se fortemente patogênica (++) a amostra que, uma vez inoculada, resultou em morte espontânea de pelo menos um camundongo, tendo sido positiva a cultura de amebas a partir de cérebro, pulmão e/ou baço (retrocultura). No caso de ter sido positiva a retrocultura sem que tivesse sido verificada a morte espontânea de qualquer camundongo, considerou-se a amostra como moderadamente patogênica (+). Quando não se obteve retrocultura positiva nem ocorreu morte de qualquer camundongo, a amostra foi considerada não patogênica.

Em 19 dos 32 camundongos em que foi positiva a cultura de *Acanthamoeba* sp., foram realizadas análises histopatológicas de fragmentos de tecido do sistema nervoso central, corados pela hematoxina-eosina (H.E.) e pelo ácido periódico de Schiff (P.A.S.).

RESULTADOS

Foram inoculados 90 camundongos com as dezoito amostras de amebas de vida livre já relacionadas anteriormente. Sete camundongos evoluíram espontaneamente para o óbito e 83 foram sacrificados pelo éter ao final de 30 dias de observação. O cultivo do cérebro, baço e pulmão desses camundongos resultou positivo em 6 dos que tiveram morte espontânea e em 26 dos que foram sacrificados, conforme é demonstrado na tabela 1.

A distribuição de positividade, traduzida pelo reisolamento das amebas de vida livre, a partir de cérebro, baço e pulmão dos camundongos inoculados (retrocultura) variou de acordo com a natureza da amostra inoculada, com o tipo de órgão cultivado e com a temperatura de cultivo, conforme mostra a tabela 2.

Dos 79 reisolamentos, 43 (54%) foram obtidos em cérebro, 29 (37%) em pulmão e 7 (9%) em baço.

O grau de patogenicidade para camundongo, observado nas quinze amostras de *Acanthamoeba* sp., está demonstrado na tabela 3. Das duas culturas mistas, apenas uma resultou fortemente patogênica, com morte espontânea de 2 camundongos, com retrocultura positiva para *Naegleria* sp. no baço cultivado, a 28 °C, e para *Acanthamoeba* sp. também no baço cultivado, a 37 °C. A amostra de *Naegleria* sp. não foi patogênica para camundongos, não sendo tampouco reisolada a partir de órgãos semeados.

TABELA 1

Retrocultura de Acanthamoeba sp., Naegleria sp. e culturas mistas de ambas (obtidas a partir de cérebro, baço e pulmão de camundongo) inoculadas em lotes de 5 camundongos, segundo óbito

Retroculturas Óbito	<i>Acanthamoeba</i> sp. (15 amostras)			<i>Acanthamoeba</i> sp. e <i>Naegleria</i> sp. (2 amostras)			<i>Naegleria</i> sp. (1 amostra)			Total geral		
	Positiva	Negativa	Total	Positiva	Negativa	Total	Positiva	Negativa	Total	Positiva	Negativa	Total
Espontâneo	4	1	5	2	—	2	—	—	—	6	1	7
Provocado pelo éter	26	44	70	—	8	8	—	5	5	26	57	83
Total	30	45	75	2	8	10	—	5	5	32	58	90

TABELA 2

Retroculturas positivas de amebas em cérebro, pulmão e baço de camundongos, segundo a temperatura, óbito e amostra inoculada

Amostra inoculada	Óbito	Retroculturas									Total
		Cérebro			Pulmão			Baço			
		ANNE	ANNE	ANNE-sal	ANNE	ANNE	ANNE-sal	ANNE	ANNE	ANNE-sal	
		28 °C	37 °C	37 °C	28 °C	37 °C	37 °C	28 °C	37 °C	37 °C	
<i>Acanthamoeba</i> sp.	Pelo éter	4	2	2	3	3	3	3	2	1	22
	Espontâneo	20	10	5	10	5	2	—	—	—	52
<i>Acanthamoeba</i> sp. e <i>Naegleria</i> sp.	Pelo éter	—	—	—	1	1	1	1	—	1	5
Total	—	24	12	7	14	9	6	3	2	2	79

VELIOSA, S. A. G.; SCHIÖDTMANN, A. G.; ALVES, V. A. F. & MANGINI, A. C. S. — Amebas de vida livre (*Naegleria* sp. e *Acanthamoeba* sp.) isoladas de fezes humanas: patogenicidade para camundongos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1): 67-72, 1984.

VELLOSA, S. A. G.; SCHLODTMANN, A. G.; ALVES, V. A. F. & MANGINI, A. C. S. — Amebas de vida livre (*Naegleria* sp. e *Acanthamoeba* sp.) isoladas de fezes humanas: patogenicidade para camundongos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1): 67-72, 1984.

Amostras teciduais de sistema nervoso central, oriundas de dois camundongos que evoluíram espontaneamente para o óbito, foram submetidas a exame histológico encontrando-se nelas meningoencefalite mononuclear, com áreas de necrose parenquimatosa. A pesquisa de *Acanthamoeba* sp. foi positiva em quantidade moderada nas duas amostras. A análise histopatológica de amostras teciduais de sistema nervoso central, oriundas de 17 camundongos sacrificados, revelou encefalite mononuclear discreta em 5 amostras, uma das

quais com esboço granulomatoso; em três desses casos foram detectadas raras *Acanthamoeba* sp. Em outros cinco casos, comprovou-se a existência de meningite mononuclear focal, em grau discreto, detectando-se, em três desses casos, raros exemplares de *Acanthamoeba* sp. Nas sete amostras restantes, não foi encontrada qualquer alteração histopatológica, sendo também, negativas as pesquisas histológicas de *Acanthamoeba* sp. (tabela 4).

TABELA 3

Grau de patogenicidade em camundongos, de 15 amostras de Acanthamoeba sp. isoladas de fezes humanas de 10 indivíduos, segundo meio empregado e temperatura de incubação

ANNE				ANNE — sai	
28 °C		37 °C		37 °C	
N.º de amostra	Grau de patogenicidade	N.º de amostra	Grau de patogenicidade	N.º de amostra	Grau de patogenicidade
7	+	1	+	0	+
1	++	2*	++	2	++
2	—	0	—	1	—

(*) = Uma das amostras é o controle (F415).

(—) = *Acanthamoeba* sp. não reisolada em cérebro, baço ou pulmão (não patogênica).

(+) = Reisolamento de *Acanthamoeba* sp. em cérebro, baço ou pulmão (moderadamente patogênica).

(++) = Morte espontânea de pelo menos um camundongo e reisolamento de *Acanthamoeba* sp. em cérebro, baço ou pulmão (amostra fortemente patogênica).

TABELA 4

Alterações histopatológicas dos cérebros de camundongos nos quais foi reisolada Acanthamoeba sp.

Óbito	N.º de casos	Amebas detectadas no corte histológico	Alterações histopatológicas
Espontâneo	2	++	Meningoencefalite mononuclear com áreas de necrose parenquimatosa
Provocado pelo éter	2	—	Encefalite mononuclear discreta (*)
	3	+	
	2	—	Meningite mononuclear focal e discreta
	3	+	
	7	—	Sem alterações histopatológicas
Total	19		

(*) Um caso apresentou padrão granulomatoso.

(—) Amebas ausentes.

(+) Raras amebas.

(++) Número moderado de amebas.

DISCUSSÃO

Segundo VISVESVARA¹², infecções inaparentes por amebas de vida livre podem ocorrer na natureza, fato confirmado por Kenney, que demonstrou a correlação entre o encontro destes amebídeos nas fezes e a elevação de anticorpos específicos. De acordo com os nossos resultados, foi possível constatar que os amebídeos de vida livre patogênicos estavam sendo albergados por indivíduos aparentemente saudáveis.

A temperatura mais eficiente para o isolamento de amebas de vida livre, a partir de fezes humanas, foi 28 °C. Este dado diverge do relatado por MOURA *et alii*⁶ que, no Rio de Janeiro, consideraram 37 °C a temperatura ideal. Esta diferença pode ser atribuída à prévia adaptação dos amebídeos à temperatura ambiente de cada localidade. Conforme obtivemos de relatório de 1983 do Ministério da Agricultura, a temperatura média anual da cidade de São Paulo foi, no mesmo ano, 19,9 °C (máxima 32,8 °C), enquanto que na cidade do Rio de Janeiro atingiu a média de 27,7 °C (máxima 37,4 °C). Todavia, mesmo em nosso estudo, as amostras mais patogênicas para camundongos foram aquelas isoladas à temperatura de 37 °C.

A temperatura de incubação de 28 °C para o reisolamento das amebas, a partir da retrocultura, foi a que se mostrou mais eficiente (tabela 2).

O cérebro foi o órgão de eleição para a proliferação das amebas, conforme seria de esperar, seguido pelo pulmão e, em último lugar, pelo baço no qual tão-somente nos animais que morreram espontaneamente foi possível o reisolamento dos amebídeos.

O exame anatomopatológico veio corroborar os achados biológicos, predominando nestas infecções os exsudatos inflamatórios de

padrão mononuclear, especialmente às custas de linfócitos e macrófagos, por vezes com esboços granulomatosos. Em plena correlação com a evolução clínica dos animais, as amostras que apresentaram maior patogenicidade, especialmente as que levaram a óbito os camundongos, condicionaram também as principais alterações teciduais, incluindo padrão inflamatório e, até, focos de necrose parenquimatosa. O encontro de *Acanthamoeba* sp. nos cortes teciduais foi também mais frequente e mais intenso nas amostras de maior patogenicidade.

Quinze dos trinta animais inoculados com cepas de *Acanthamoeba* sp. demonstraram retrocultura positiva única e exclusivamente no cérebro. Este fato nos leva a crer que ocorra penetração por contigüidade, e instalação primária no sistema nervoso central, corroborando o achado de PATRAS & ANDUJAR que, em 1966, estudaram um caso onde a penetração de *Acanthamoeba* sp. ocorreu através do alvéolo dentário, após extração de um dente da arcada superior, concordando este relato com o de GRIFFIN² que faz referência a um caso descrito em que a via de penetração foi através do nervo óptico. Esses dados são contrários à hipótese de disseminação por via hematogênica, com posterior localização no sistema nervoso central, defendida por MARTÍNEZ *et alii*⁵.

Com relação à nossa amostra 402, isolada a 37 °C, mista de *Acanthamoeba* sp. e *Naegleria* sp., é possível que tenha ocorrido sinergismo de patogenicidade. GRIFFIN², ao se referir ao trabalho de Appley (1970), também havia levantado esta hipótese. Neste sentido, nossos dados são, ainda, preliminares, e este aspecto será motivo de um próximo estudo onde testaremos separadamente a patogenicidade das cepas de *Naegleria* sp. e *Acanthamoeba* sp.

RIALA6/575

VELLOSA, S. A. G.; SCHLODTMANN, A. G.; ALVES, V. A. F. & MANGINI, A. C. S. — Free-living amebas (*Naegleria* sp. e *Acanthamoeba* sp.) in human feces: pathogenicity for mice. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):67-72, 1984.

ABSTRACT: Fifteen samples of *Acanthamoeba* sp., one sample of *Naegleria* sp. and 2 samples of a mixture of *Acanthamoeba* sp. and *Naegleria* sp. were inoculated to 10-12 g white mice, each sample to a lot of 5 mice. The free-living amebas had been isolated from the stools of individuals from a nursery of São Paulo City. Under slight ether anesthesia, the mice received, through the nasal route, 0.04 ml of a suspension of amebas at concentrations of 3×10^5 to 8×10^6 trophozoites per ml. Six mice died spontaneously and the remaining were sacrificed after observation for 30 days. The brain, spleen and lung were ground and inoculated on Petri dishes with non-nutrient agar or non-nutrient agar with saline layered with heat-killed *Aerobacter aerogenes*. The plates were then incubated at 28 and 37 °C and observed for 10 days. The pathogenicity for mice was disclosed in 4 strains of *Acanthamoeba* sp. and in one sample of the mixture of *Acanthamoeba* sp. and *Naegleria* sp. Sections of some specimens of mouse tissues were microscopically examined and revealed inflammatory changes with predominance of lymphocytes, plasma cells and histiocytes. In some foci, amebas were present.

DESCRIPTORS: free-living amebas, isolation from human feces; *Acanthamoeba* sp., *Naegleria* sp., pathogenicity for mice (experimental study).

VELLOSA, S. A. G.; SCHLODTMANN, A. G.; ALVES, V. A. F. & MANGINI, A. C. S. — Amebas de vida livre (*Naegleria* sp. e *Acanthamoeba* sp.) isoladas de fezes humanas: patogenicidade para camundongos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1): 67-72, 1984.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSON, K. & JAMIESON, A. — Bacterial suspensions for the growth of *Naegleria* species. *Pathology*, 6:79-84, 1974.
2. GRIFFIN, J. L. — Pathogenic free-living amoebae. In: KREIER, J. P., ed. — *Parasitic protozoa*. v. 2: *Intestinal flagellates, histomonads, trichomonads, amoeba, opalinids, and ciliates*. New York, Academic press., 1978. p. 507-49.
3. MARTINEZ, A. J.; NELSON, E. C. & DUMA, R. J. — Animal model: primary amebic (*Naegleria*) meningoencephalitis in mice. *Am. J. Pathol.*, 73:545-8, 1973.
4. MARTINEZ, A. J.; SANTOS NETO, J. G.; NELSON, E. C.; STAMM, W. P. & WILLAERT, E. — Primary amebic meningoencephalitis. *Pathol. Annu.*, 12:225-50, 1977.
5. MARTINEZ, A. J. — Free-living amoebae: pathogenic aspects. A review. *Protozool. Abstr.*, 7:293-306, 1983.
6. MOURA, H.; SALAZAR, H. C.; FERNANDES, O. & LISBOA, D. C. — Isolamento de amebas de vida livre em fezes de indivíduos residentes em comunidade fechada. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 19.^o, Rio de Janeiro, 1983. p. 113. [Programas e resumos]
7. PAGE, F. C. — An illustrated key to freshwater and soil amoebae. With notes on cultivation and ecology. [s.l.] Freshwater Biological Assoc., 976. 155 p. [Sci. publ. n.º 34]
8. PATRAS, D. & ANDUJAR, J. J. — Meningoencephalitis due to *Hartmannella* (*Acanthamoeba*). *Amer. J. clin. Path.*, 46:226-33, 1966.
9. SKOCIL, V.; SERBUS, C. & CERVA, L. — Epidemiological study of the incidence of amoebae of the limax group in military communities. III. Investigation of the community of 3rd Carrison LI problems of contagion in the community. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* (Prague), 15:156-62, 1971.
10. SALAZAR, H. C. & MOURA, H. — Pesquisa de anticorpos para *Naegleria* e *Acanthamoeba* em soros humanos. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 19.^o, Rio de Janeiro, 1983. p. 112. [Programas e Resumos]
11. VELLOSA, S. A. G.; SCHLODTMANN, A. G.; ALVES, V. A. F. & MANGINI, A. C. S. — Amebas de vida livre (*Naegleria* sp. e *Acanthamoeba* sp.) isoladas de fezes humanas: patogenicidade para camundongos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44:61-65, 1984.
12. VISVESVARA, G. S. — The public health importance and disease potencial of small free-living amoebae. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE BIOLOGY AND PATHOGENICITY OF SMALL FREE-LIVING AMOEBAE. 2nd. Gainesville, Florida, 1980. p. 28-45. [Report s.n.t.]
13. WILLAERT, E. — The pathogenicity of free-living amoebae. *Rev. Assoc. Belgue Technol. Lab.*, 4:101-22, 1977.

Recebido para publicação em 5 de janeiro de 1984.

VARIÁVEIS RELACIONADAS AO DESENVOLVIMENTO DE *TRITOMA INFESTANS* KLUG, 1834 EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO. 1. RELAÇÃO ENTRE O REPASTO SANGÜÍNEO E O DESENVOLVIMENTO *

José Eduardo TOLEZANO **
Pedro Paulo CHIEFFI **
Maria de Fátima Lereno de ARAÚJO ***
Anna Maria VALENTIM **
Suzel Scalon RIBEIRO ***

RIALA6/576

TOLEZANO, J. E.; CHIEFFI, P. P.; ARAÚJO, M. F. L.; VALENTIM, A. M. & RIBEIRO, S. S. — Variáveis relacionadas ao desenvolvimento de *Triatoma infestans* Klug, 1834 em condições de laboratório. 1. Relação entre o repasto sangüíneo e o desenvolvimento. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):73-79, 1984.

RESUMO: Em continuação a estudos iniciados anteriormente, visando padronização de parâmetros envolvidos na realização de xenodiagnóstico, procurou-se observar neste experimento as relações existentes entre as manipulações em laboratório, a quantidade de sangue ingerido no repasto sangüíneo e o desenvolvimento ninfal de *Triatoma infestans*. Foram utilizados dois grupos, formados por 180 ninfas de 1.º estágio cada um. Um destes grupos constituiu a amostra testada para as manipulações diárias de pesagem, enquanto o outro grupo foi mantido sem manipulação, servindo como controle. A manipulação interferiu na quantidade de sangue sugado, tendo o grupo manipulado sugado cerca de 35% menos sangue do que o controle. A quantidade de sangue sugado pelas ninfas, no estágio em que morreram, correspondeu a valor sensivelmente menor do que o observado para a média do volume de sangue sugado pelos demais insetos de mesmo estágio, que sobreviveram à muda seguinte. À medida que os reduvídeos avançaram em seus estádios evolutivos, necessitaram mais repastos; assim, no 1.º estágio 82,43% das ninfas precisaram um único repasto, enquanto no 5.º estágio 77,39% tiveram que se alimentar duas ou mais vezes. Nos estádios mais jovens, quando ocorreu necessidade de mais de um repasto, dentro do mesmo estágio, observou-se que a quase totalidade das ninfas sugaram quantidade de sangue maior do que em repasto anterior. Tais informações permitem que os autores discutam sobre as formas e condições de criação de triatomíneos em laboratório e sobre as ninfas adequadas ao xenodiagnóstico.

DESCRITORES: *Triatoma infestans*, repasto sangüíneo, desenvolvimento ninfal; *T. infestans*, criação em laboratório.

INTRODUÇÃO

Diversos são os relatos encontrados na literatura que mostram estudos da biologia de triatomíneos quando mantidos em condições de laboratório. Alguns visaram à obtenção de subsídios para melhoria das condições de criação destes hemípteros em laboratório^{5, 6, 8, 10, 11, 15, 17}; outros pretenderam obter informações que permitissem a compreensão da epidemiologia da doença de Chagas, ou

mesmo encontrar alternativas de combate ao vetor^{4, 7, 12, 13, 18}. Em outros estudos, pesquisadores realizaram experimentos na tentativa de padronizar os procedimentos necessários para a execução do xenodiagnóstico para aquela parasitose^{2, 9, 16, 19}.

O presente trabalho é continuação de estudos anteriormente iniciados²⁰, que visam à padronização de parâmetros envolvidos na realização desse método parasitológico para o diagnóstico da infecção chagásica, pro-

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Bolsista do Instituto Adolfo Lutz.

curando observar neste experimento as relações existentes entre as manipulações em laboratório, a quantidade de sangue ingerido no repasto sangüíneo e o desenvolvimento ninfal de *Triatoma infestans* em laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados dois grupos, formados cada um por 180 ninfas de 1.º estágio de *Triatoma infestans*. Um desses grupos constituiu a amostra testada para as manipulações diárias de pesagem, e o outro, o grupo controle. Para as pesagens utilizou-se balança analítica com capacidade de pesagem de 0,1 milígrama a 160 gramas*. Os insetos foram mantidos aos pares em frascos de Borrel com 10 centímetros de altura por 4 centímetros de diâmetro. Estabeleceu-se em 21 dias o período de tempo entre cada repasto sangüíneo, durante os quais foi permitido que os triatomíneos sugassem até a saciedade. A fonte de alimento utilizada foi constituída por camundongos albinos. Em todo o experimento os dois grupos foram mantidos em temperatura e umidade relativas do ar de $28^{\circ}\text{C} \pm 2$, e 70 — 80%, respectivamente.

RESULTADOS

A figura 1 mostra comparação da quantidade média de sangue sugado pelo grupo testado para as manipulações e pelo grupo controle, apresentando o grupo manipulado capacidade de sugar 35% menor que o grupo controle.

Pela tabela 1, é possível verificar a quantidade média de sangue sugado no último repasto imediatamente antes da muda ou da morte das ninfas do grupo testado. Nota-se que, no estágio em que o inseto morreu, a quantidade de sangue ingerido é sensivelmente menor do que a quantidade de sangue sugado pelos barbeiros que no mesmo estágio evoluíram para o estágio seguinte.

A figura 2 mostra comparação da quantidade média de sangue ingerido pelas ninfas que evoluíram para forma alada, como fêmeas, com a quantidade média de sangue ingerido pelas ninfas que atingiram a fase alada, como machos.

A tabela 2 revela que, à medida que os reduvídeos avançaram em seus estádios evolutivos, necessitaram mais repastos. Assim, no 1.º estágio, 82,43% das ninfas precisaram de um único repasto sangüíneo para sofrer ecdisse, enquanto, no 5.º estágio, 77,39% tiveram que se alimentar duas ou mais vezes.

Nos estádios mais jovens, quando ocorreu necessidade de mais de um repasto, a quase

totalidade das ninfas sugaram quantidade de sangue maior do que em repasto anterior (tabela 3).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Considerando-se que a técnica de xenodiagnóstico oferece melhores resultados quando comparada a outras técnicas parasitológicas em pacientes em fase crônica da doença de Chagas, em função principalmente da maior quantidade de sangue que os triatomíneos ingerem¹⁹, e que a manipulação excessiva de laboratório interfere decisivamente na quantidade de sangue a ser sugado pelos barbeiros (figura 1) percebe-se que a forma de criação desses insetos em laboratório pode ser fator de destaque para uma maior positividade do xenodiagnóstico.

A observação de que a quantidade de sangue sugado por insetos no estágio em que morreram (tabela 1) foi sensivelmente menor do que a média verificada para as ninfas que sobreviveram à muda seguinte permite especular esta possível incapacidade fisiológica de sugar, que levou à morte tais artrópodes, e que seria problema recente, ou seja, anomalia localizada dentro deste último estágio de vida, já que em estágio anterior a quantidade de sangue sugado por estes insetos foi semelhante à média sugada pelos outros insetos no mesmo estágio.

As observações da figura 2 indicam que as ninfas que evoluíram para fase adulta, como machos, sugaram nos quatro primeiros estádios quantidade de sangue ligeiramente superior à que sugaram as ninfas que evoluíram para fêmeas. Tal variação foi de 14,1% para o primeiro estágio, 4,28% para o segundo, 2,52% para o terceiro e 5,1% para o quarto estágio. Já no quinto estágio e na fase adulta a situação inverteu-se, com as ninfas que evoluíram para fêmeas sugando, respectivamente, 11,0% e 23,5% mais sangue do que as ninfas que se transformaram em machos.

Observou-se, ainda, em concordância com os dados de JUAREZ¹³, que as ninfas tendem sempre a sugar maior quantidade de sangue quanto mais avançado seu estágio de desenvolvimento. Os adultos, todavia, representam exceção, já que normalmente ingerem menos sangue do que ninfas de quinto estágio¹. No presente experimento, entretanto, um dos grupos apresentou fêmeas sugando maior quantidade de sangue do que a média ingerida por ninfas de quinto estágio, fato que talvez pudesse ser explicado em função da ocorrência de variações ambientais ou genéticas, ou mesmo do número da geração de criação em laboratório¹⁴.

* Mettler H35AR.

TOLEZANO, J. E.; CHIEFFI, P. P.; ARAÚJO, M. F. L.; VALENTIM, A. M. & RIBEIRO, S. S. — Variáveis relacionadas ao desenvolvimento de *Triatoma infestans* Klug, 1834 em condições de laboratório. 1. Relação entre o repasto sanguíneo e o desenvolvimento. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1): 73-79, 1984.

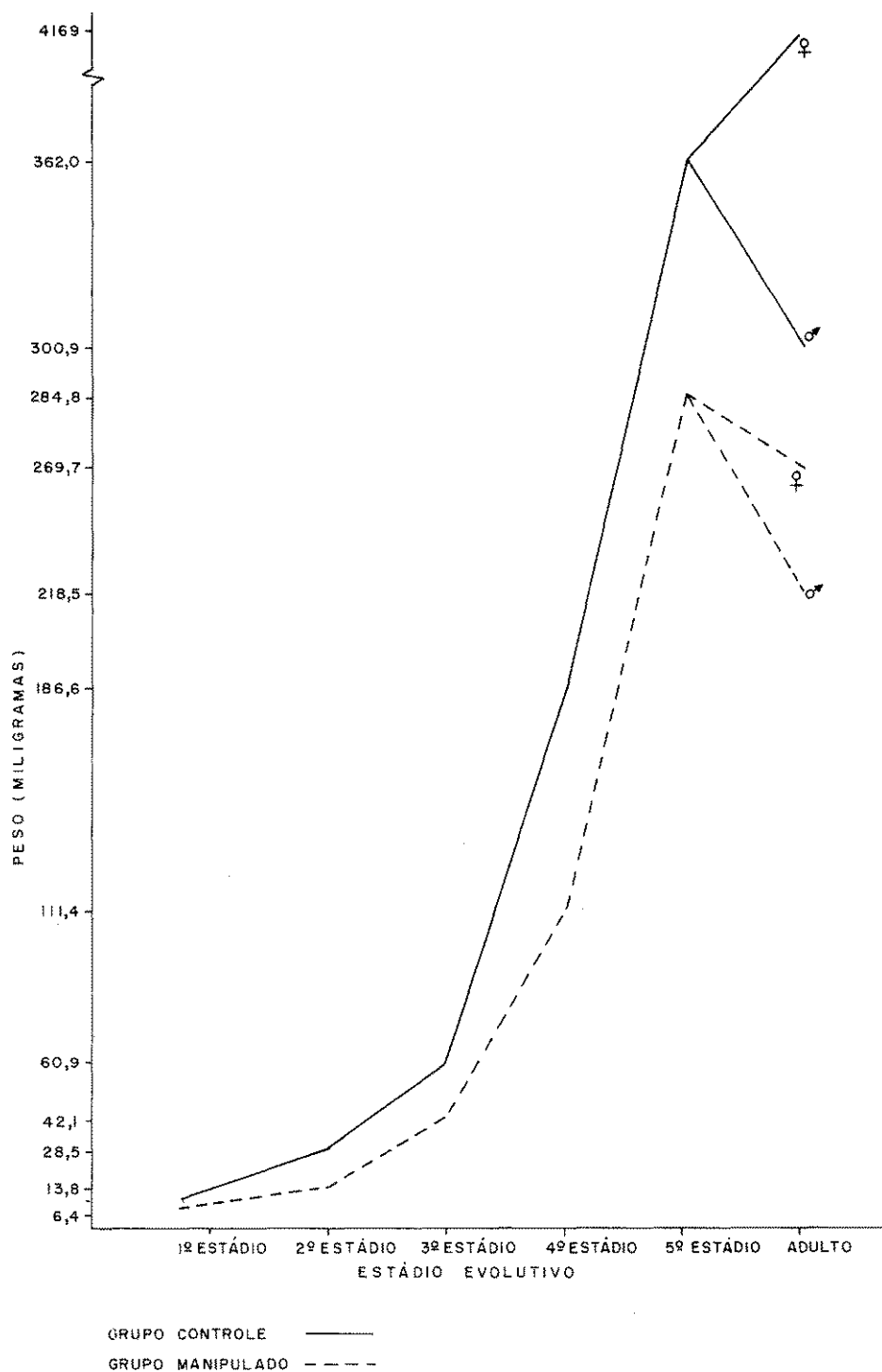


FIGURA 1 — Comparação do ganho de peso entre o grupo controle e o grupo manipulado.

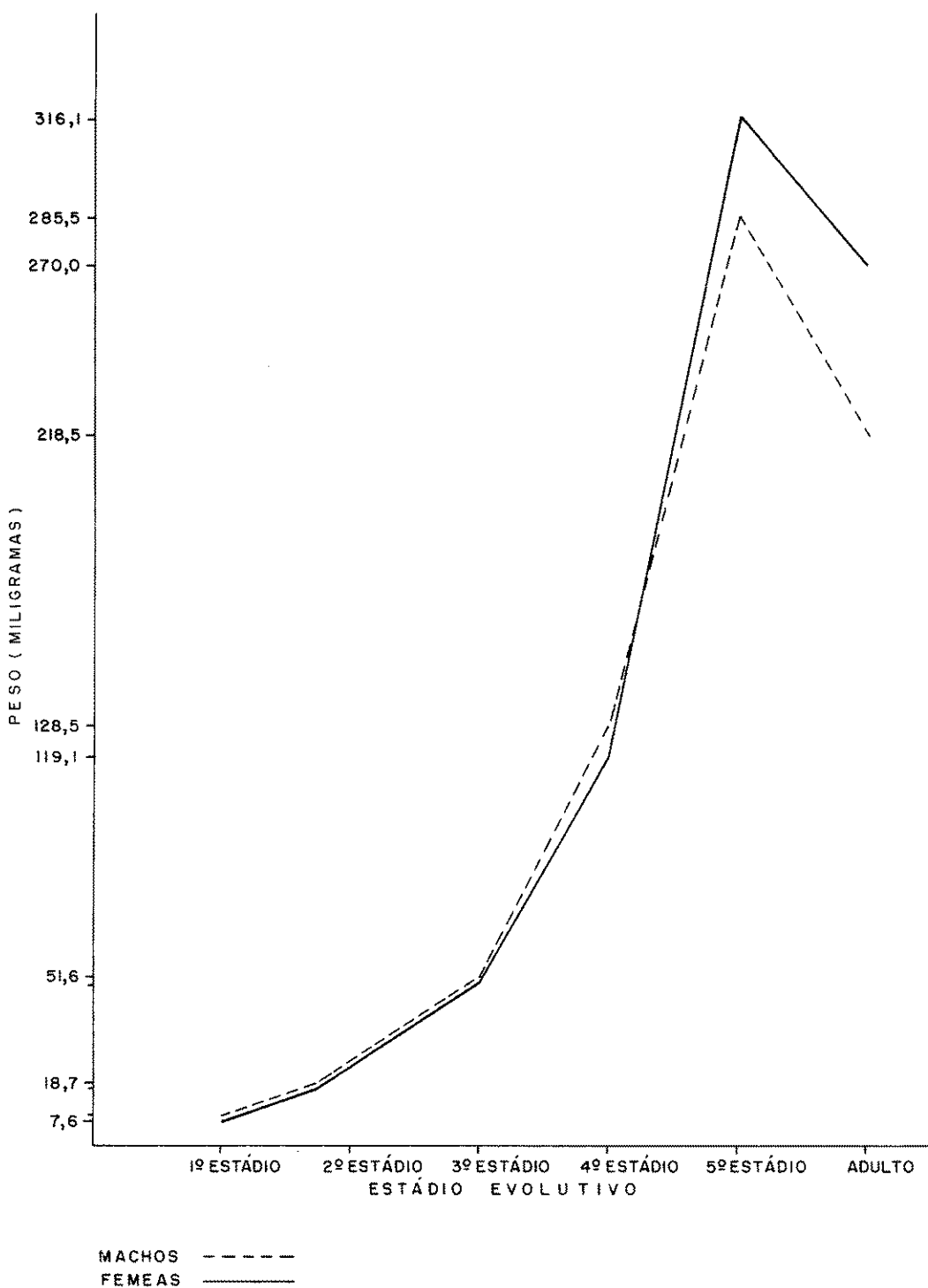


FIGURA 2 — Quantidade de sangue sugado pelas ninfas que evoluíram para forma alada, como machos, e a quantidade de sangue sugado pelas ninfas que evoluíram para forma adulta, como fêmeas.

TOLEZANO, J. E.; CHIEFFI, P. P.; ARAÚJO, M. F. L.; VALENTIM, A. M. & RIBEIRO, S. S. — Variáveis relacionadas ao desenvolvimento de *Triatoma infestans* Klug, 1834 em condições de laboratório. 1. Relação entre o repasto sangüíneo e o desenvolvimento. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1): 73-79, 1984.

TABELA 1

Quantidade de sangue sugado no último repasto antes da muda ou da morte para insetos do grupo manipulado

Estádio do repasto	Estádio da morte mg de sangue sugado					
	Adulto	Quinto	Quarto	Terceiro	Segundo	Primeiro
Primeiro	8,1	8,3	7,4	7,7	7,4	4,6
Segundo	18,3	17,8	17,5	17,3	8,8	—
Terceiro	51,0	43,9	44,5	32,5	—	—
Quarto	122,3	120,1	50,2	—	—	—
Quinto	300,9	237,1	—	—	—	—

(—) = insetos mortos no repasto anterior.

TABELA 2

Porcentagem de repastos sangüíneos necessários para ocorrer ecdise nos insetos do grupo manipulado

Estádio	Repasto Único (%)	Dois Repastos (%)	Três Repastos (%)	Quatro Repastos (%)
Primeiro	82,43	17,57	—	—
Segundo	34,14	64,24	1,62	—
Terceiro	50,09	32,4	13,75	3,22
Quarto	14,52	60,44	23,43	1,61
Quinto	20,63	54,33	15,96	9,08

(—) = ausência de repastos.

Argumentos semelhantes, aventados por JURBERG & RANGEL¹⁴ para justificar discrepâncias entre suas observações sobre o tempo de evolução de *Rhodnius robustus*, e os de outros pesquisadores, poderiam ser aplicados para esclarecer as diferenças verificadas no presente trabalho e os dados apresentados por JUAREZ¹³, com referência às quantidades mínimas de sangue para desencadear o fenômeno da ecdise. Assim, de acordo com JUAREZ, as ninfas de 5.º estágio deveriam sugar pelo menos 300 miligramas de sangue para que se transformassem em adultos. Neste trabalho, além de grande variação individual na quantidade de sangue ingerido por cada ninfa, observaram-se mudas no 5.º estágio com ingestão de quantidades bem inferiores a 300 miligramas.

TABELA 3

Porcentagem de ninfas que, apresentando necessidade de sugar mais de uma vez dentro do mesmo estágio, sugaram maior quantidade de sangue que em repasto anterior

Estádio	Porcentagem de ninfas
Primeiro	100,0
Segundo	96,44
Terceiro	79,81
Quarto	56,23
Quinto	66,07

A capacidade de muda para o 2.^o e 3.^o estádios com único repasto sanguíneo já havia sido observada anteriormente⁸, o mesmo pode ser dito em relação à necessidade de dois ou mesmo mais repastos sanguíneos para que as ninfas de 3.^o a 5.^o estádios de *Triatoma infestans* atinjam a muda seguinte¹⁰.

Por tudo isso, é possível dizer-se que a criação de *Triatoma infestans*, em laboratório, deva ser executada de tal forma que exista pouca manipulação destes insetos, já que

assim estarão aptos a sugar quantidade de sangue consideravelmente maior do que a verificada para insetos muito manuseados.

As ninfas em estágio preferencial de uso para o xenodiagnóstico (3.^o ou 4.^o estádios), talvez, devessem sofrer um primeiro repasto logo após a muda, antes de serem utilizadas para o xenodiagnóstico, já que, conforme os dados da tabela 3, tenderiam a sugar maior quantidade de sangue no repasto seguinte, 15 a 20 dias após.

RIALA6/576

TOLEZANO, J. E.; CHIEFFI, P. P.; ARAÚJO, M. F. L.; VALENTIM, A. M. & RIBEIRO, S. S. — Variables influencing the growth of *Triatoma infestans* Klug, 1834 in the laboratory. 1. Relation between blood meal and growth. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):73-79, 1984.

ABSTRACT: The relationship between the growth of *Triatoma infestans* nymphs and the amount of blood fed were investigated in the laboratory. Two groups were employed, each composed of 180 nymphs in the first stage. One of these groups was the sample tested by daily weighing while the other group was not weighed. The handling for weighing influenced the amount of blood sucked since the weighed group sucked 35% less blood compared with the unweighed group. The amount of blood sucked by the nymphs which died in the first stage was appreciably lower than that of the nymphs in the same stage but which survived to the next change. As the nymphs advanced in their evolutive stages, they needed more meal. For instance, in the first stage, 82.43% of nymphs required only one meal while in the fifth stage, 77.39% needed two or more meals. In the earlier stages, when more than one meal was needed, it was noted that those nymphs sucked more blood in the second meal compared with nymphs from the same stage that sucked only once. Considerations on the laboratory rearing of *T. infestans* are made on the basis of the results obtained.

DESCRIPTORS: *Triatoma infestans*, blood meal, nymphal growth; *T. infestans*, laboratory rearing.

BIBLIOGRAFIA

1. ALMEIDA, S. P.; MILES, M. A. & MARS-DEN, P. D. — Verificação da suscetibilidade à infecção por *Trypanosoma cruzi*, dos estágios evolutivos de *Rhodnius neglectus*. *Rev. bras. Biol.*, 33:42-52, 1973.
2. ALMEIDA, S. P.; SHERLOCK, I. A. & FAHEL, F. — Novo procedimento de xenodiagnóstico na forma crônica da doença de Chagas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 74: 285-288, 1976.
3. BARRETO, M. P. — Transmissores do *Trypanosoma cruzi*: os triatomíneos. In: CANÇADO, J. R., ed. — *Doença de Chagas*. Belo Horizonte, Fac. Med. Univ. Minas Gerais, 1968. p. 189-224.
4. CORRÊA, F. M. 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.
5. DIAS, E. — Criação de triatomídeos em laboratório. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 33:407-412, 1938.
6. DIAS, E. — Notas sobre o tempo de evolução de algumas espécies de triatomíneos em laboratório. *Rev. bras. Biol.*, 15:157-158, 1955.
7. DIAS, J. C. P. — Observações sobre o comportamento de triatomíneos brasileiros frente ao jejum, em laboratório. *Rev. bras. Malariol. Doenças trop.*, 17:5563, 1965.
8. FREITAS, J. L. P. — *Contribuição para o estudo da moléstia de Chagas por processos de laboratório*. São Paulo, FMUSP, 1947. 160p.
9. FREITAS, J. L. P. — Observações sobre o tempo ótimo para o exame de triatomídeos empregados em xenodiagnóstico. *Folia clin. biol.*, 16:180-185, 1950.

TOLEZANO, J. E.; CHIEFFI, P. P.; ARAÚJO, M. F. L.; VALENTIM, A. M. & RIBEIRO, S. S. — Variáveis relacionadas ao desenvolvimento de *Triatoma infestans* Klug, 1834 em condições de laboratório. I. Relação entre o repasto sanguíneo e o desenvolvimento. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1): 73-79, 1984.

10. GOODCHILD, A. J. P. — Some observations on growth and egg production of blood-sucking reduviids *Rhodnius prolixus* and *Triatoma infestans*. *Proc. R. entomol. Soc. Lond. (Ser. A Entomol.)*, 30:127-36, 1955.
11. HACK, W. H. — Estudios sobre biología del *Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Hem. Reduviidae). *Ann. Inst. Med. Region., Corrientes*, 4:125-147, 1955.
12. JUAREZ, E. — Observações sobre o ciclo evolutivo do *Triatoma arthurneivae*, em condições de laboratório (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Saúde públ., São Paulo*, 4:13-18, 1970.
13. JUAREZ, E. — Comportamento do *Triatoma infestans* sob várias condições de laboratório. *Rev. Saúde públ., São Paulo*, 4:147-166, 1970.
14. JURBERG, J. & RANGEL, E. F. — Observações sobre *Rhodnius robustus* Larrousse, 1927 e *Rhodnius pallescens* Barber, 1932 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Rev. bras. Biol.*, 40:569-577, 1980.
15. NEIVA, A. — Informações sobre a biologia do *Conorhinus megistus* Burmeister. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2:206-212, 1910.
16. NUSSENZWEIG, V. & SONNTAG, R. — Xenodiagnóstico artificial. Novo processo. Primeiros resultados positivos. *Rev. paul. Med.*, 40:41-43, 1952.
17. PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, A. — Ciclo evolutivo do *Triatoma infestans* em condições de laboratório. *Rev. bras. Malariol. Doenças trop.*, 5:35-47, 1953.
18. 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 esquemas de combate a esse vetor). *Rev. bras. Malariol. Doenças trop.*, 21:117-59, 1969.
19. SIQUEIRA, A. F. — Diagnóstico Parasitológico da moléstia de Chagas. In: CANÇADO, J. R., ed. — *Doença de Chagas*. Belo Horizonte, Fac. Med. Univ. Minas Gerais, 1968. p. 261-78.
20. TOLEZANO, J. E.; ARAÚJO, M. F. L.; RIBEIRO, S. S. & ISHIDA, M. M. I. — Efeitos do jejum e da temperatura na infectividade de triatomíneos por *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43 (1/2):25-32, 1983.

Recebido para publicação em 7 de fevereiro de 1984.

VARIÁVEIS RELACIONADAS AO DESENVOLVIMENTO DE *TRITOMA INFESTANS* KLUG, 1834 EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO. 2. EFEITOS DA MANIPULAÇÃO NA SOBREVIVÊNCIA E NA FERTILIDADE *

José Eduardo TOLEZANO **
Maria de Fátima Lereño de ARAÚJO ***
Pedro Paulo CHIEFFI **
Anna Maria VALENTIM **
Suzel Scalon RIBEIRO ***

RIALAG/577

TOLEZANO, J. E.; ARAÚJO, M. F. L.; CHIEFFI, P. P.; VALENTIM, A. M. & RIBEIRO, S. S. — Variáveis relacionadas ao desenvolvimento de *Triatoma infestans* Klug, 1834 em condições de laboratório. 2. Efeitos da manipulação na sobrevivência e na fertilidade. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(2):81-86, 1984.

RESUMO: Avaliaram-se neste estudo os efeitos da manipulação excessiva em laboratório sobre a sobrevivência em cada estágio e sobre a fertilidade de *Triatoma infestans*. Foram utilizados neste experimento ovos selecionados ao acaso no dia da desova, coletados em número tal que permitiu, após eclodirem, a constituição de dois grupos com 180 ninfas cada, sendo que um grupo foi mantido sem manipulações, servindo como controle e o outro constituiu o grupo testado para as manipulações de pesagem diária. Os insetos receberam alimentação em intervalos fixos de 21 dias, quando se lhes permitia sugar até a saciedade. O tempo de permanência em cada estágio foi sempre maior no grupo testado; no grupo controle o tempo total de evolução foi, em média 47 dias inferior ao do outro grupo. Nos estádios iniciais, o grupo testado mostrou altas taxas de mortalidade. Viu-se ainda que a grande maioria dos exemplares do grupo testado apresentou-se ao mudar para a fase adulta com anormalidades morfológicas. Ao chegarem à fase alada os insetos foram acasalados, observando-se que todas as fêmeas do grupo controle desovaram ovos férteis, enquanto as do grupo testado, com exceção de uma única fêmea, desovaram ovos inférteis. Ao se efetuar o acasalamento de indivíduos de um grupo com os do outro, verificou-se que várias outras fêmeas do grupo testado passaram a desovar ovos férteis. Discute-se a importância da manipulação sobre o desenvolvimento, sobrevivência e fertilidade de *Triatoma infestans* criados em laboratório.

DESCRITORES: *Triatoma infestans*, sobrevivência, fertilidade, criação em laboratório.

INTRODUÇÃO

As formas de criação e manuseio de triatomíneos em laboratório têm sido motivo de vários estudos já publicados^{1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11}.

Usualmente, tais estudos procuram refletir o sucesso da metodologia utilizada para criação de tais insetos em condições de laboratório. Os insucessos são representados através de tábuas ou curvas de mortalidade.

Esses dados são expressos em termos de coeficiente ou porcentagem de mortalidade, respectivamente e, via de regra não conseguem por si só explicar as causas ou mesmo o significado dos valores observados. Por outro lado, sabe-se que a curva de sobrevivência fisiológica e principalmente a curva de sobrevivência ecológica fornecem informações que permitem especulação sobre algumas hipóteses que explicariam as taxas observadas³.

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Bolsista do Instituto Adolfo Lutz.

A primeira destas curvas aplica-se a situações em que a espécie a ser acompanhada não está submetida a condições de predação, competição ou ação de parasitas e, além disso, dispõe de alimentação em quantidade suficiente. Quando tais condições não estão presentes, empregam-se as curvas de sobrevivência ecológica.

MARGALEF⁸, ao considerar curvas de sobrevivência ecológica, diz que animais que apresentam na parte inicial destas curvas queda rápida, devem produzir grande quantidade de ovos sem proteção, especialmente quando têm estádios larvários livres. Por outro lado, a caída na curva de sobrevivência será tanto mais suave, quanto maior a proteção conferida aos descendentes.

No presente experimento, procura-se avaliar e discutir os efeitos da manipulação excessiva em laboratório na sobrevivência, tempo de desenvolvimento ninfal e fertilidade de *Triatoma infestans*, através da montagem de curvas de sobrevivência.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se ovos de *Triatoma infestans*, selecionados ao acaso no dia da desova, coletados em número tal que permitiu, após eclodirem, a constituição de dois grupos com 180 ninfas cada. Um grupo foi mantido sem manipulação, servindo como controle e o outro constituiu o grupo testado para as manipulações diárias de pesagem. Os insetos receberam alimentação em intervalos fixos de 21 dias, quando se lhes permitia sugar até a saciedade. Durante todo o experimento os barbeiros foram mantidos a temperatura de $28^{\circ}\text{C} \pm 2$ e umidade relativa do ar entre 70-80%. Ao chegarem à fase alada os insetos foram acasalados. Durante todo o experimento trabalharam-se em condições extremas: manipulação excessiva ou praticamente nenhuma manipulação, conforme o grupo de triatomíneos.

RESULTADOS

As ninfas do grupo manipulado apresentaram tempo de permanência dentro de um mesmo estágio sempre maior do que as do grupo controle, exceção feita a observação do tempo de permanência no 5.^o estágio (figura 1). No grupo controle o tempo total de evolução foi em média 47 dias inferior ao verificado para os triatomíneos do outro grupo. No grupo manipulado, as ninfas que evoluíram para fêmeas, o fizeram em tempo médio de 244 dias (19 ninfas) enquanto que as que evoluíram para machos, levaram em média 254 dias (32 ninfas); já para o grupo controle as ninfas que evoluíram para fêmeas

o fizeram em tempo médio de 202 dias (61 ninfas) e as ninfas que se transformaram em machos 203 dias (52 ninfas).

Nos grupos controle e manipulado persistem em 5.^o estágio, respectivamente 16 e 7 ninfas, mesmo após mais de 500 dias da eclosão dos ovos que originaram estas fêmeas.

A curva de sobrevivência (figura 2) mostrou valores mais altos de sobrevivência para o grupo controle, quando considerados os diferentes estádios ninfais; o mesmo se verificou em relação à fase adulta.

Viu-se ainda que, a grande maioria dos exemplares do grupo manipulado apresentou-se ao mudar para a fase adulta com anormalidades morfológicas nas asas, patas e mesmo abdômen e cabeça, fato que entre os exemplares do controle não ocorreu.

Todas as fêmeas do grupo controle após acasalamento, desovaram ovos férteis, enquanto as do grupo testado, com exceção de uma única fêmea, desovaram ovos inférteis. Algumas fêmeas do grupo testado que grupo controle, passaram a desovar ovos haviam desovado ovos inférteis quando acasaladas com machos do grupo testado, ao serem novamente acasaladas a machos do férteis.

DISCUSSÃO

Os dados expressos na figura 1, indicam suscetibilidade das ninfas às manipulações sofridas, com sensível retardo para obtenção de ninfas em estágio preferencial para uso em xenodiagnóstico, demorando 32% de tempo (34 dias) a mais do que o verificado para que os insetos do grupo controle chegassem ao 3.^o estágio e 33% de tempo (56 dias) a mais do que o verificado para que essas mesmas ninfas do grupo controle chegassem ao 4.^o estágio. Em estudo anterior¹², mostrou-se que insetos muito manipulados em laboratório sugaram cerca de 30% (19 mg) e 40% (75 mg) menos sangue que insetos não manuseados, quando em 3.^o e 4.^o estádios, respectivamente.

Esses dados permitem supor que a demora observada para o desenvolvimento ninfal do grupo manipulado seja conseqüência direta da menor quantidade de sangue sugado por tais barbeiros¹²; todavia, convém salientar que aquela ingestão de menor volume de sangue foi resultante da manipulação excessiva.

As observações sobre a existência de ninfas ainda em 5.^o estágio e que demoram a evoluir para a fase adulta, parece não ser fato incomum, já que JUAREZ⁸ verificou o mesmo em seus estudos sobre criação de triatomíneos em condições de laboratório.

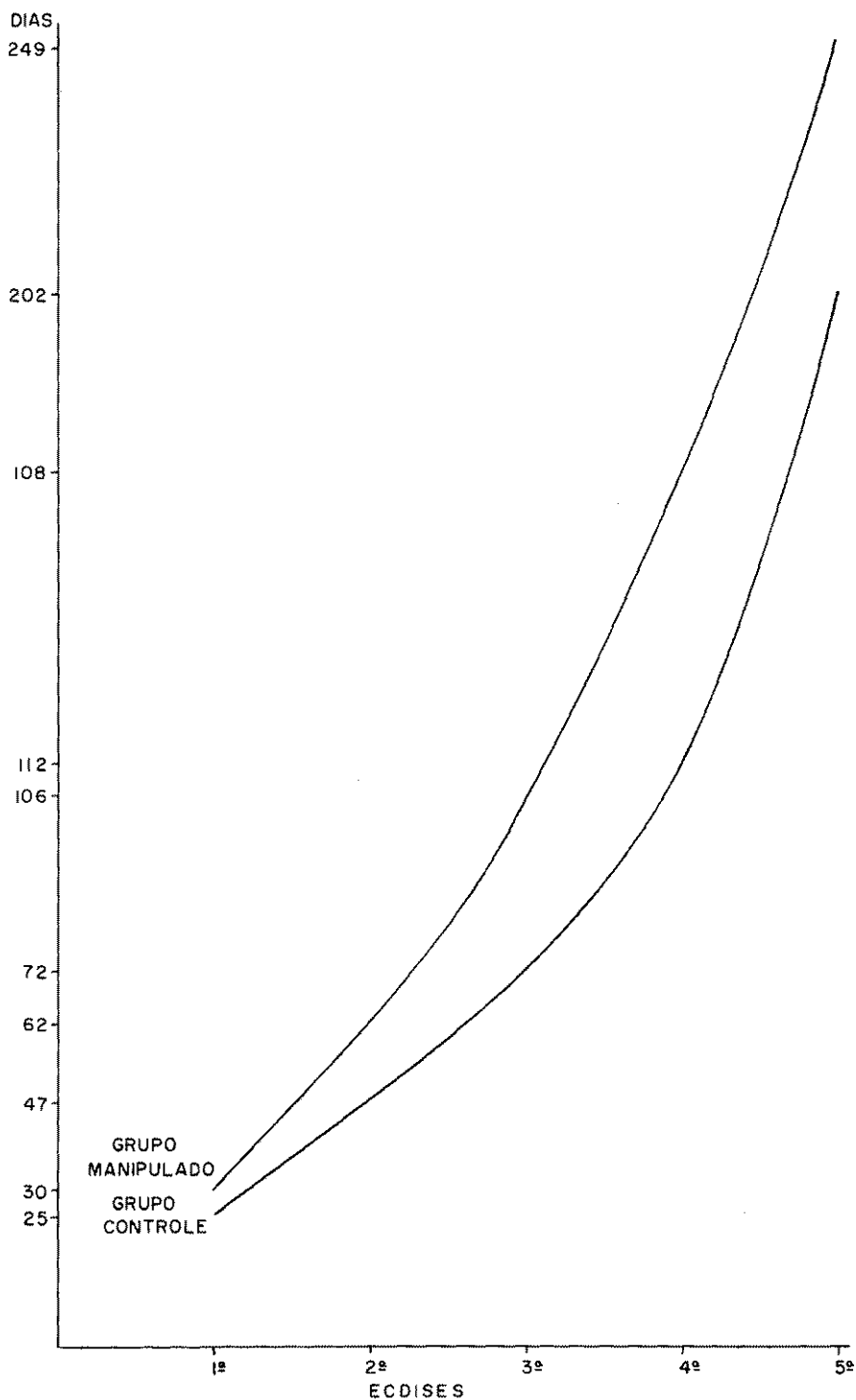


FIGURA 1 — Tempo necessário para evolução ninfal do grupo controle e do grupo manipulado.

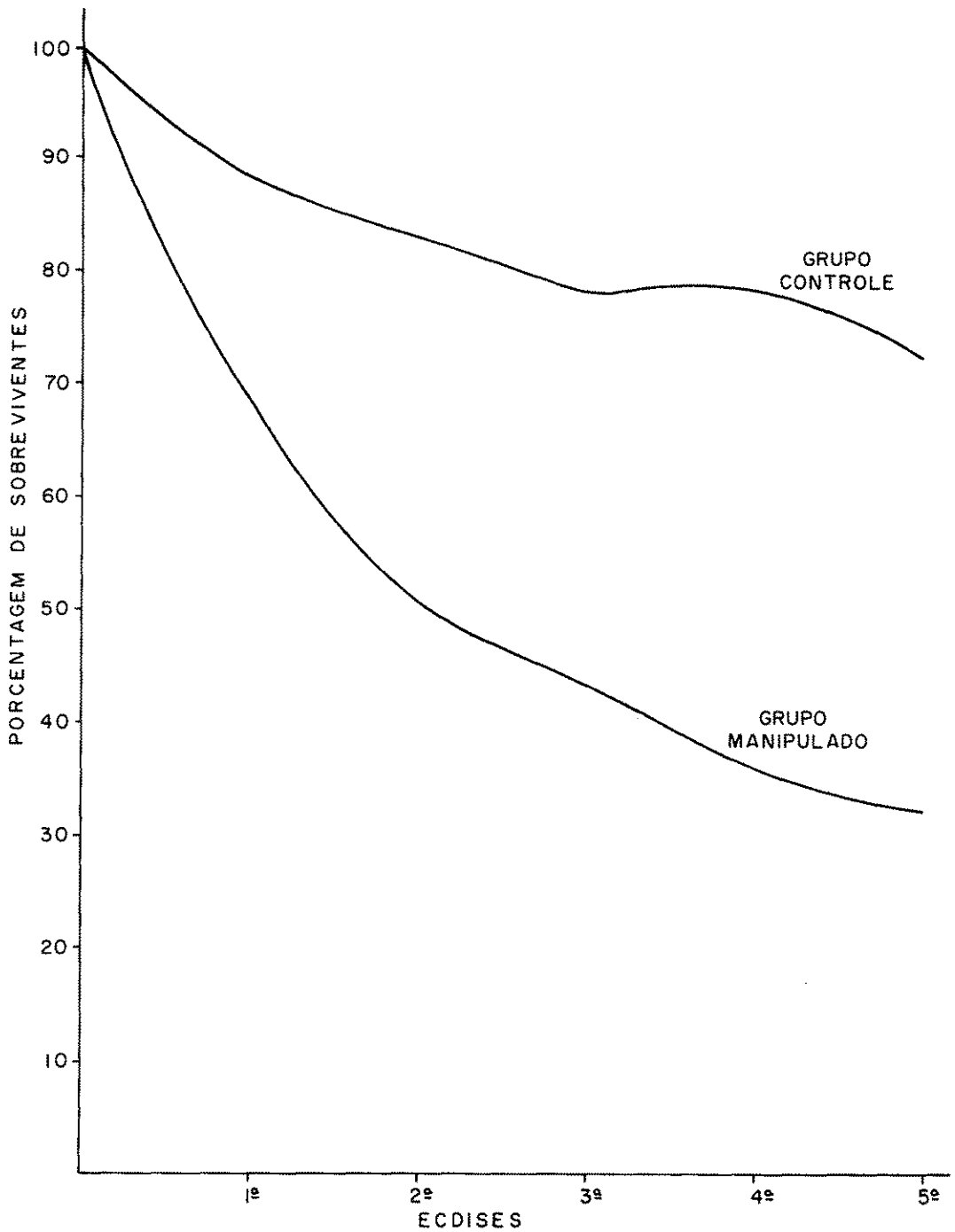


FIGURA 2 — Curvas de sobrevivência do grupo controle e do grupo manipulado.

Em concordância com os resultados do presente trabalho é possível supor que todas as vezes em que triatomíneos forem mantidos em condições que acarretem manipulação excessiva, poder-se-ão observar curvas de sobrevivência semelhantes à verificada para o grupo testado que se aproxima do traçado de curva de sobrevivência ecológica, conforme mostra a figura 2. Já no caso do grupo controle a curva de sobrevivência mostra traçado semelhante a de curvas de sobrevivência fisiológica. Ficaria, desta forma, caracterizada ação de tipo predatória no caso de manipulação excessiva dos triatomíneos.

A ação predatória da manipulação pode ainda ser mostrada através das anormalidades morfológicas sofridas nos exemplares manuseados.

Em 1980 FELICIANGELI et alii³ mostraram que machos de *Rhodnius prolixus* mantidos em jejum, possivelmente tenham diminuição da atividade das glândulas acessórias, o que explicaria a observação de baixas porcentagens de eclosão dos ovos postos por fêmeas acasalados com machos

mantidos em jejum prolongado. Neste experimento, as observações de que fêmeas do grupo manipulado, acasaladas com machos do mesmo grupo, desovaram na quase totalidade ovos inférteis e a partir do momento em que estas fêmeas foram colocadas em contato com machos do grupo controle, passaram a desovar ovos férteis, parecem indicar fenômeno semelhante. Ao mesmo tempo é possível que a manipulação causadora de diminuição da ingestão de sangue pelos barbeiros¹² também tenha causado nos machos de *T. infestans* diminuição da atividade de tais glândulas, ou por outro lado, poder-se-ia supor, que o jejum teria exercido atividade "predatória" sobre os insetos estudados por Feliciangeli et alii.

Outra forma de evidenciar a ação predatória da manipulação excessiva sobre os triatomíneos é através da observação de que a quase totalidade dos insetos machos que chegaram ao estágio adulta revelaram-se inférteis, fato que praticamente condena ao extermínio uma colônia mantida nessas condições.

RIALA6/577

TOLEZANO, J. E.; ARAÚJO, M. F. L.; CHIEFFI, P. P.; VALENTIM, A. M. & RIBEIRO, S. S. — Variables influencing the growth of *Triatoma infestans* Klug, 1834 in the laboratory. 2. Effects of handling on survival and fertility. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):81-86, 1984.

ABSTRACT: The effects of excessive handling on survival in each stage and on fertility of *Triatoma infestans* is examined. Eggs were randomly selected on the day of egg laying in a number that two groups, each of 180 nymphs, were obtained. While one of the groups was not subjected to handling, the other was handled daily for weighing. The insects received meals at fixed intervals of 21 days which allowed them to become satiated. The time spent in each stage was always longer in the handled (test) group. In the control group, the whole evolution took a mean of 47 days less than the test group. In the initial stages, the handled group showed a high mortality rate. Moreover, this test group showed frequently morphologic anomalies on reaching the adult stage. On reaching the winged stage, the insects were mated and all control females laid fertile eggs, while in the test group all but one female laid unfertile eggs. When insects of one group were mated with insects of the other group, several handled females laid fertile eggs. Considerations are made on these effects of handling on the growth, survival and fertility of *T. infestans* under laboratory conditions.

DESCRIPTORS: *Triatoma infestans*, survival, fertility, laboratory rearing.

BIBLIOGRAFIA

1. CORRÊA, F. M. A. — Estudo comparativo do ciclo evolutivo do *Triatoma infestans* alimentados em diferentes animais (Hemiptera, Reduviidae). *Pap. Avulsos Dep. Zool* (S. Paulo), 15:177-200, 1976.
2. DIAS, E. — Criação de triatomíneos em laboratório. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 33: 407-12, 1938.
3. FELICIANGELI, M. D.; RABINIVICH, J. & FERNANDEZ, E. — Resistência al ayuno en triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae) Venezolanos. I. *Rhodnius prolixus* Stal. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 22:53-61, 1980.
4. GOODCHILD, A. J. P. — Some observations on growth and egg production of blood-sucking reduviids. *Proc. R. entomol. Soc. Lond., Ser. A. gen. entomol.*, 30:137-44, 1955.

TOLEZANO, J. E.; ARAÚJO, M. F. L.; CHIEFFI, P. P.; VALENTIM, A. M. & RIBEIRO, S. S. — Variáveis relacionadas ao desenvolvimento de *Triatoma infestans* Klug, 1834 em condições de laboratório. 2. Efeitos da manipulação na sobrevivência e na fertilidade. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44 (1):81-86, 1984.

5. HACK, W. H. — Estudios sobre biología del *Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Hem., Reduviidae). *Ann. Inst. Med. region., Corrientes*, 4:125-47, 1955.
6. JUAREZ, E. — Observações sobre o ciclo evolutivo do *Triatoma arthurneivai* em condições de laboratório (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Saúde públ. S. Paulo*, 4: 13-18, 1970.
7. JUAREZ, E. — Comportamento do *Triatoma infestans* sob várias condições de laboratório. *Rev. Saúde públ. S. Paulo*, 4:147-66, 1970.
8. MARGALEF, R. *Ecología*. 2.^a ed. Barcelona, Omega, 1977. p. 575-83.
9. PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, A. — Ciclo evolutivo do *Triatoma infestans* em condições de laboratório. *Rev. bras. Malariol. Doenças trop.*, 5:35-47, 1953.
10. PESSÓA, S. B. & BARROS, N. V. — Criação do *Triatoma infestans* na temperatura de estufa. *Folha méd.*, 20:285-7, 1939.
11. SIQUEIRA, F. — Diagnóstico parasitológico da moléstia de Chagas. In: CANÇADO, J. R., ed. — *Doença de Chagas*. Belo Horizonte, Fac. Med. Univ. Minas Gerais, 1968. p. 261-78.
12. TOLEZANO, J. E.; CHIEFFI, P. P.; ARAÚJO, M. F. L.; VALENTIM, A. M. & RIBEIRO, S. S. — Variáveis relacionadas ao desenvolvimento de *Triatoma infestans* Klug, 1834 em condições de laboratório. I. Relação entre repasto sanguíneo e desenvolvimento. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, (1): 73-79, 1984.

Recebido para publicação em 7 de fevereiro de 1984.