



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENAÇÃO DOS INSTITUTOS DE PESQUISA
INSTITUTO ADOLFO LUTZ
SÃO PAULO, SP - BRASIL

REVISTA
do
INSTITUTO
ADOLFO LUTZ

ISSN0073-9855

RIALA6

VOLUME 48

NÚMERO 1/2

JUN./DEZ., 1988



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENAÇÃO DOS INSTITUTOS DE PESQUISA
INSTITUTO ADOLFO LUTZ
SÃO PAULO, SP - BRASIL

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

REDATOR RESPONSÁVEL

LUIZ SEBASTIÃO PRIGENZI
Diretor Geral do Instituto Adolfo Lutz

COMISSÃO DE REDAÇÃO

ODAIR ZENEON, *Presidente*
CARMO ELIAS ANDRADE MELLES
ELISEU ALVES WALDMAN
ELZA SCHWARZ GASTALDO BADOLATO
JOSÉ EDUARDO TOLEZANO
JOSÉ LEOPOLDO FERREIRA ANTUNES
MYRNA SABINO
NEUS PASCUET PREGNOLATTO
VENÂNCIO AVANCINI FERREIRA ALVES

REDATOR-SECRETÁRIO

DÉBORA DOMINGUES ESTRELLA REBOCHO

Endereço/*address*

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

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 —

1941-1987, 1-47

1988, 48(1/2)

ISSN 0073-9855
RIALA6



CDD 18 614.07205

(*) 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 Abstracts on Hygiene and Communicable Diseases, AGRINDEX, Analytical Abstracts, Bibliografia brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia, Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Excerpta Medica, Food Science and Technology Abstracts, Index Medicus Latino-americano, LILACS, SP: Saúde Pública, Microbiology Abstracts, Sumários Correntes brasileiros, Toxicology abstracts, Tropical Diseases Bulletin, Virology Abstracts e outros.

SUMÁRIO/CONTENTS

- 635 Isolamento de *Leishmania* sp. a partir de creme leucocitário de paciente com leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo. Nota prévia.
Leishmania sp. isolated from peripheral blood leukocytes of patient with cutaneous leishmaniasis in São Paulo state. Previous note.
José Eduardo TOLEZANO; Maria de Fátima Lerenó de ARAÚJO; Anna Maria VALENTIM & José Mario de Freitas BALANCO..... 1-3
- 636 Sobrevivência de *Trypanosoma cruzi* em *Triatoma infestans* mortos por ação de inseticida. Nota prévia.
Survival of Trypanosoma cruzi in Triatoma infestans dead by insecticide action. Previous note.
José Eduardo TOLEZANO; Elizabeth Visone NUNES & Helena Hilomi TANIGUCHI 5-6
- 637 Determinação quantitativa de corantes artificiais em alimentos
Quantitative determination of synthetic dyes in foods
Michiko Y. TAKAHASHI; Helena Y. YABIKU & Deise A.P. MARSIGLIA..... 7-15
- 638 Avaliação nutricional de misturas utilizadas no preparo de bebidas lácteas para a merenda escolar
Nutritional evaluation of mixtures used in lacteous beverages for school meal programs
Neusa V. Valério SILVEIRA; Marilda DUARTE; Elizabeth L. CHICOUREL; Jacira H. SARUWTARI & Maria Auxiliadora de B. RODAS..... 17-19
- 639 Aspectos higiênicos e sanitários da água de poços cavados em diferentes áreas sócio-econômicas de São Paulo
Sanitarian aspects of well's water of different social-economical areas in São Paulo
Nilva Aparecida R. PEDRO; Tereza Atsuko KUSSUMI; Dilma Scala GELLI; Mitie KAWANO & Aldo de SOUZA..... 21-27
- 640 Hanseníase: a lepra sob a mira da lei
Hanseniasis: leprosy, under law's sight
José Leopoldo Ferreira ANTUNES; Olavo Viana COSTA & Maria Helena Oliva AUGUSTO..... 29-36
- 641 Sujidades e fraudes em chocolates
Light filth and adulteration in chocolate
Claydes de Quadros ZAMBONI; Helena Ide ALVES; Regina Maria M.S. RODRIGUES; Nazareth SPITERI; Márcia Bittar ATUI & Mônica Arcón BATISTIC..... 37-41
- 642 Meningites bacterianas. I: interferência de antibacterianos presentes no líquido cefalorraquidiano no diagnóstico etiológico
Bacterial meningitis. I: interference of antimicrobial drugs in cerebrospinal fluid for etiological diagnosis
Carmo Elias Andrade MELLES; Ilka Maria LANDGRAF & Rita de Cássia Barradas BARATA..... 43-47

643	Determinação da DL-lisina em produtos farmacêuticos e dietéticos <i>Determination of DL-lysine in pharmaceuticals and dietetics products</i> Maria Auxiliadora CHAVES; Amélia Shioko AKATUKA & Mariangela Tirico AURICCHIO.....	49-55
644	Pneumonia infantil por <i>Chlamydia trachomatis</i> : diagnóstico sorológico específico <i>Infantile pneumonia by Chlamydia trachomatis: specific serological diagnose</i> Heloisa Helena B. MELLES; Silvia COLOMBO & Bernardo EJZENBERG.....	57-62
645	Enteroparasitoses em pacientes acometidos pela síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS/SIDA) <i>Intestinal parasitic infections among patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)</i> Rosa Maria Donini Souza DIAS; Walquíria Pereira PINTO; Pedro Paulo CHIEFFI; Ana Célia S. MANGINI; Domingas Maria A.G. Vieira TORRES; Rosana DEL BIANCO & Luciana FERRARI.....	63-67
646	Avaliação microscópica das condições higiênicas de extrato e purê de tomate e de <i>catchup</i> <i>Tomato paste, tomato puree and catchup: microscopic avaluation and sanitary conditions</i> Marlene Correia dos SANTOS & Claydes de Quadros ZAMBONI.....	69-73
647	Enteroparasitoses no município de Guarulhos, SP, Brasil. I. Prevalência de infecção entre escolares residentes no bairro de Taboão, em junho de 1984 <i>Intestinal parasitic infection in the municipality of Guarulhos, São Paulo State, Brazil. I. Prevalence of infection among schoolchildren in Taboão district, June 1984</i> Pedro Paulo CHIEFFI; Eliseu Alves WALDMAN; Rosa Maria Donini Souza DIAS; Domingas Maria A. Grispino Vieira TORRES; Rubens CHIMARA; Liria C. MIZUMOTO; Aline Maria Augusto da SILVA & Mauro UEHARA.....	75-80
648	Ocorrência de aflatoxina B ₁ em produtos alimentícios e rações animais, consumidos no Estado de São Paulo e em várias outras regiões do Brasil, no período de 1980 a 1987 <i>Incidence of aflatoxin B₁ in foodstuffs and animal feeds, consumed in São Paulo and in various areas of Brazil</i> Myrna SABINO; Leda C.A. LAMARDO; Emiko I. INOMATA; Alice H. ICHIKAWA & Cláudia M.P. GIANNATTASIO.....	81-85
649	Bifenilas policloradas em óleos minerais usados em transformadores <i>Polichlorinated byphenyls in mineral oil for transformers</i> Heloisa H.C. BARRETTO; Odete N.K. INOMATA & Walkyria H. LARA.....	87-92
650	Dosagem de creatinina: fatores de erro na reação de Jaffé <i>Creatinine dosage: error factors in the Jaffé's reaction</i> Lucia N. CASTILHO; Mary M. YUKI; Marina Y.N. ODA & Heidi P. MARTINS.....	93-98
	ÍNDICE DE AUTOR	99
	ÍNDICE DE ASSUNTO	101
	SUBJECT INDEX	103

AOS COLABORADORES

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

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

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

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

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

Página de rosto

Titulo 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 (BRASIL. Leis, decretos etc. — Resolução n.º 01/82 do Conselho Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. *Diário Oficial*, Brasília, 10 maio 1982. Seção I, pt. I, p. 8384-93. Aprova a regulamentação metrológica das unidades de medida).

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

Na ausência de um dado numérico, empregar um dos seguintes sinais convencionais:

- quando, pela natureza do fenômeno, não puder existir o dado;
- Z quando o dado for rigorosamente zero;
- ... quando não se dispuser do dado;
- 0 } quando a aplicação dos critérios de arredondamento não permitir alcançar,
0,0 } respectivamente, os valores 1; 0,1; 0,01 etc.;
- 0,000 }
- 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 (encabeçado pelo título do artigo), no final, antes das referências bibliográficas. Não deverão exceder 200 palavras. O estilo será claro e conciso, pondo em relevo, de forma precisa, os fatos observados e os elementos novos essenciais à conclusão. Serão redigidos pelo próprio autor ou com a colaboração deste, observando-se as recomendações da UNESCO (*Bol. UNESCO, Bibl.* 23:72-7, 1969). A fim de facilitar a indexação, o resumo deverá conter:

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

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

No texto — Serão citadas por meio de número índice correspondente ao da lista de referências, e escritas em versal; assim, para um autor: ... TAUNAY³¹ verificou ...; para dois autores ... LEME & CARRIJO¹⁹, pesquisando ...; para mais de dois autores: ... No trabalho de TSUNODA *et alii*²; 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). Todos os autores do artigo deverão ser citados.

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, 1963-65. 3 v.), em grifo, n^o do volume, n^o do fascículo (quando a numeração não for continuada), páginas inicial e final do artigo, data da publicação do volume ou fascículo.

Ex.:

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

Para livros

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

Ex.:

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

DA PUBLICAÇÃO

1. Os trabalhos destinados à publicação na *Revista do Instituto Adolfo Lutz* deverão ser encaminhados à Biblioteca do Instituto Adolfo Lutz.
2. A publicação de artigos na Revista está condicionada à aprovação da Comissão de Redação, que poderá sugerir ao autor alterações do original. Este original só será aceito quando tiver o visto da Comissão de Redação.
3. Todo trabalho entregue para publicação deverá ser assinado pelo autor e trazer endereço para correspondência. No caso de mais de um autor, deverá ser expressamente indicado o responsável pela publicação.
4. Os trabalhos serão publicados em ordem cronológica de recebimento, salvo o caso especial de *nota prévia*, que terá prioridade.
5. A data de recebimento do artigo constará obrigatoriamente no final do mesmo.
6. A primeira prova tipográfica será revisada pelo redator-secretário e conferida pelo autor, que a rubricará.
7. Os originais de trabalhos aceitos para publicação não serão devolvidos aos autores.
8. Os autores terão direito a 50 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 ou estrangeiros.

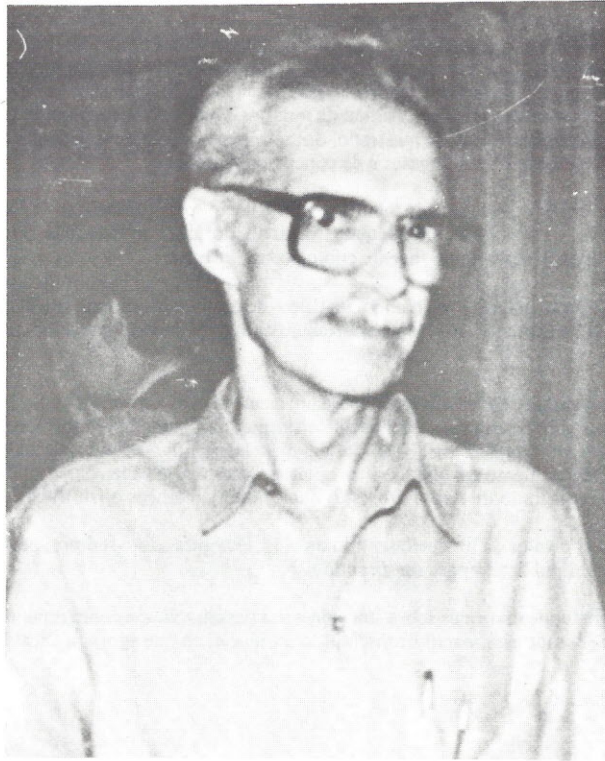


FOTO POR JUSTINO SILVA

DR. OSCAR SEBASTIÃO DE SOUZA LOPES

20/01/1931
19/08/1988

Difícil perder um homem.

Fácil discorrer sobre um grande homem.

É para homenagear um grande homem este artigo; homenagear o Dr. Oscar Sebastião de Souza Lopes, o Dr. Oscar.

Contar aqui a sua história seria desnecessário, pois todos nós a conhecemos, mas alguns detalhes importantes deste virologista poderiam ser lembrados.

O Dr. Oscar nasceu em São José dos Campos, SP, em 20 de janeiro de 1931. Em 1955 formou-se médico pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Frequentou inúmeros cursos e estágios de especialização e atualização, além de ter bolsas para estudos no exterior. Efetuou inúmeras viagens para estudos, e atuou como conselheiro temporário da Organização Pan-Americana da Saúde — OPAS.

Suas atividades profissionais abrangeram tanto o setor público como o privado. Iniciou sua carreira como técnico de laboratório no Instituto Clemente Ferreira (1949), e foi transferido para o Instituto Adolfo Lutz — IAL em 1953, onde foi nomeado médico em 1960, encarregando-se do Laboratório de Arbovírus. Em 1970 passa a Chefe daquela Seção, e em 1975 foi designado Diretor do Serviço de Virologia, cargo que ocupou até 1977. Nesse mesmo ano assumiu o cargo de Pesquisador Científico nível VI; e aposentou-se em 1980. Entre 1980 e 1982, atuou como virologista da Organização Sanitária Pan-Americana, integrando o Programa de “Febres Hemorrágicas na Argentina”. Em 1982, encarregou-se do Laboratório de Controle de Qualidade e Desenvolvimento da Vacina contra a Febre Amarela em Bio-Manguinhos, Fundação Osvaldo Cruz, RJ. Em 1986, retornou ao IAL como Liderança Científica na área de Virologia. No período de 1965 a 1980, dirigiu, ainda, o Laboratório de Colaboração em Arbovírus para a América Latina, designado pela OMS.

Durante toda sua carreira científica assessorou um variado número de projetos de pesquisa; recebeu auxílios de diferentes entidades (OMS, WRAIR, Fundação Rockefeller, FINEP); foi membro de várias Comissões de natureza técnico-científica; ministrou aulas para diferentes níveis (especialização, graduação, pós-graduação); proferiu palestras e seminários (sua última apresentação foi em maio de 1988 no Simpósio sobre Dengue e Febre Amarela, no Rio de Janeiro); orientou significativo número de estagiários; participou de muitos Congressos apresentando trabalhos de elevado valor científico; colaborou na elaboração de teses de mestrado, doutoramento e docência; pertenceu a Sociedades e entidades científicas; participou de bancas de defesa de teses e de concursos públicos.

Em outubro de 1978 recebeu o prêmio “Medalha de Valor Cívico” pela sua destacada participação no combate ao surto epidêmico de encefalite, o primeiro no Brasil, que grassou no litoral sul do Estado de São Paulo, logrando isolar e identificar um novo arbovírus, o vírus Rocio, agente etiológico da infecção.

Além de tudo isso, publicou mais de 30 trabalhos científicos de nível internacional, sendo que suas últimas colaborações, editadas em fins de 1987 e início de 1988, trouxeram significativos avanços para melhoramentos na vacina contra a Febre Amarela.

Como inicialmente comentado, é fácil discorrer sobre um cientista de tal porte, e sua perda é dolorosa. Foi profícua a convivência com ele nesses últimos tempos. Tempos difíceis, finais, em que ele transformou seu quarto de hospital em escritório para discussão de temas da Virologia. Tempos em que ele incentivou o pessoal dos diferentes laboratórios do IAL com os quais esteve pessoalmente envolvido — Arbovírus, Microscopia Eletrônica, Biologia Molecular —, para juntos elaborar um projeto integrado de Arboviroses, o qual, hoje, já começa a frutificar.

Importante foi aprender o valor da luta pelo sentido da vida, encontrando-o sempre, puxando da “manga do pijama” mais um trabalho recém publicado para ser discutido.

Por fim, é desnecessário comentar mais sobre sua vida e sua pessoa. Não se conta uma vida assim tão rápido. Que ele, no pedacinho do Paraíso onde está, continue discutindo a Ciência, só que agora, a Ciência dos Sábios, com tantos outros que lá estão.

Júlia Maria Martins de Souza Felipe



Dr. ALEXANDRE VRANJAC

08/11/1942
21/11/1988

Cumpre-nos registrar, com o pesar de todos os seus amigos e colegas do Instituto Adolfo Lutz, o falecimento do professor e médico sanitarista Alexandre Vranjac, em 21 de novembro de 1988.

Nasceu na capital do Estado de São Paulo, em 8 de novembro de 1942. Filho de Ivan Vranjac e Emília Bergams Vranjac. Casado com Rosa Maria Vranjac, tiveram três filhos, Silvio, Sérgio e Nádia.

Formou-se em medicina pela Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo em 1969; nos dois anos seguintes foi médico residente do Departamento de Medicina Social dessa Faculdade, onde pôde se especializar nessa área, contando com a orientação de alguns dos mais respeitados profissionais desse campo no país. Em 1971 obteve o título de médico sanitarista pela Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

Nos anos de 1972 e 1973 enfrentou seu primeiro desafio profissional trabalhando como pediatra e Coordenador de Saúde Pública da ICOMI, importante empresa de mineração que atua no território federal do Amapá, serviço considerado por muitos anos como modelo no campo da Saúde Pública, no Brasil.

No segundo semestre de 1973 retornou a São Paulo, e foi contratado como professor da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. Logo em seguida ingressou na carreira de médico sanitarista da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, acumulando, desde então, ambas as funções.

Desde essa época até 1983, dirigiu o Centro de Saúde Escola da Barra Funda. De 1983 a 1986 foi Coordenador de Saúde da Comunidade, administrando toda a rede de Centros de Saúde do Estado. Desde 1987 vinha dirigindo o Centro de Vigilância Epidemiológica, e a partir de 1988 assumira também a direção do Centro de Vigilância Sanitária da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.

Fez vários cursos de especialização e aperfeiçoamento: em Medicina do Trabalho, em Classificação Internacional de Doenças e Causas de Morte, em Didática Aplicada ao Ensino Superior, em Uso de Simulações em Educação Médica.

Em 1979 estagiou na França, no Institut Nationale de la Santé et de la Recherche Medicale de Paris. Em junho de 1980 obteve o título de Mestre em Saúde Pública pela Faculdade de Saúde Pública da USP, defendendo a dissertação “Epidemiologia da Tuberculose — Estudo da Mortalidade por Tuberculose no Município de São Paulo”; e em 1988, pela mesma Faculdade, obteve o título de Doutor em Saúde Pública, com a tese “Meningites de Etiologia Indeterminada no Município de São Paulo”.

Sua carreira acadêmica desenvolveu-se exclusivamente no Departamento de Medicina Social da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, ministrando aulas de Bioestatística, Epidemiologia, Pediatria Social e Saúde Pública. Demonstrou excelente didática e uma excepcional vocação para a formação de novas gerações de médicos; foi um professor que ensinava pelo exemplo. Sua atuação nesse campo foi reconhecida inclusive pelo corpo docente, que o escolheu como paraninfo de várias turmas formadas nessa Faculdade.

Sua vida caracterizou-se pela dedicação integral ao trabalho, pela competência e capacidade em exercer pesados encargos administrativos sem deixar para segundo plano suas atividades de ensino.

O Dr. Alexandre Vranjac não foi somente um excelente profissional, mas também um amigo e colega leal. Exerceu sua liderança em cargos públicos sem se submeter a outros interesses que não os da população. Sua atuação como professor e médico sanitaria constituiu um marco de referência a todos que atuam ou venham a atuar no campo da Saúde Pública.

Por fim, devemos assinalar o reconhecimento da equipe técnica do Instituto Adolfo Lutz pelo significativo apoio que o Dr. Alexandre Vranjac ofereceu, durante os últimos seis anos, a diversas propostas apresentadas por nossa Instituição aos órgãos superiores da Secretaria de Estado da Saúde.

Eliseu Alves Waldman

ISOLAMENTO DE *LEISHMANIA* SP. A PARTIR DE CREME LEUCOCITÁRIO DE PACIENTE COM LEISHMANIOSE TEGUMENTAR NO ESTADO DE SÃO PAULO

Nota Prévia

José Eduardo TOLEZANO*
Maria de Fátima Lereño de ARAÚJO*
Anna Maria VALENTIM*
José Mario de Freitas BALANCO*

RIALA6/635

TOLEZANO, J.E.; ARAÚJO, M.F.L.; VALENTIM, A.M. & BALANCO, J.M.F. — Isolamento de *Leishmania* sp. a partir de creme leucocitário de paciente com leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo. Nota prévia. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):1-3, 1988.

DESCRITORES: *Leishmania* sp., isolamento de creme leucocitário; leishmaniose tegumentar, Estado de São Paulo, Brasil.

A presença de flagelados do gênero *Leishmania* no sangue periférico de pacientes com calazar indiano vem sendo observada desde o início dos estudos sobre leishmaniose visceral. Ainda que esse parasitismo fosse escasso, os percentuais de positividade em esfregaços sanguíneos destes pacientes, já no início do século, eram sempre superiores a 50%⁸.

Nas Américas, MIGONE (1913)⁹, no Paraguai, revelou o encontro de "corpúsculos", que ele acreditava serem *Leishmania*, no sangue de paciente que havia trabalhado no Brasil na construção da ferrovia São Paulo-Corumbá antes de se mudar para o Paraguai. Talvez este possa ser considerado como o primeiro caso autóctone de calazar no Novo Mundo⁶.

No Brasil, DEANE & DEANE (1955)⁴ e DEANE (1956)⁵ em tentativas de encontro de *Leishmania* em sangue colhido de polpa digital de pacientes com leishmaniose visceral no Ceará, para observações microscópicas, encontraram 9,3% de positividade.

Em 1983, TOLEDO et alii¹¹ após isolarem o parasita do sangue circulante de 3 indivíduos assintomáticos para calazar, chamaram a atenção para a necessidade de estudos que pudessem avaliar a im-

portância do homem na manutenção e propagação da infecção. TOLEZANO et alii (1987)¹² e ARAÚJO et alii (1988)¹, investigando o isolamento de *Leishmania* através de inoculações em hamster (*Cricetus auratus*) de creme leucocitário de pacientes com leishmaniose visceral, obtiveram resultados favoráveis ao isolamento em 66,7% de 15 casos estudados.

Pela literatura, o encontro de *Leishmania* em amostra de sangue de pacientes com leishmaniose tegumentar constitui relato raro. Em 1981, BOWDRE et alii³ mencionaram o isolamento deste flagelado em cultivo de creme leucocitário de paciente com lesões cutâneas. RAMOS et alii (1982)¹⁰ conseguiram isolar o parasita através do cultivo de mononucleares separados por gradiente de Ficoll a partir de sangue de pacientes com leishmaniose tegumentar no Rio de Janeiro.

Em 1984, BARBOSA et alii² também isolaram do sangue periférico de paciente chagásico crônico, amostra de *Leishmania* em meio de cultivo.

Se o encontro destes protozoários a partir de amostras de sangue de pacientes com leishmaniose tegumentar constitui relato raro; em relação aos re-

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

servatórios silvestres responsáveis pela manutenção do parasita na natureza, ainda que num ciclo enzootico, este achado tem sido mais freqüente e valorizado para o reconhecimento de animais que efetivamente possam atuar como fontes de infecção para espécies de flebotomíneos^{7,13,14}.

Na presente nota, relatamos o isolamento de protozoário do gênero *Leishmania* a partir de inoculação em hamster de creme leucocitário de paciente com Leishmaniose Tegumentar.

O paciente, J.Z., do sexo masculino, procedente do município de Cordeirópolis no Estado de São Paulo apresentou lesão ulcerosa na face dorsal do primeiro artelho do pé esquerdo. Ao diagnóstico laboratorial, mostrou reação intradérmica de Montenegro positiva (10mm), exame parasitológico direto em esfregaço de raspado da lesão positivo para presença de formas amastigotas. Tentativas de isolamento do tripanossomatídeo através de cultivos em

meio de Ducrey e inoculações em hamster de macerado de fragmentos da lesão cutânea resultaram negativas; no entanto, inoculações em hamster de creme leucocitário deste paciente foram positivas para este protozoário.

Deve ser ressaltado que, embora as dificuldades verificadas para observação desta amostra de *Leishmania* tenham sugerido tratar-se de flagelado do subgênero *Viannia*⁶, os animais positivos mostram o protozoário visceralizado em fígado e baço. Tentativas de estabilização do parasita em cultivos acelulares poderão permitir reconhecer sua verdadeira identidade.

De outra parte, este achado estimula-nos na continuação de estudos visando avaliar o papel que o homem pode eventualmente desempenhar como fonte de infecção em leishmanioses tegumentares e viscerais.

RIALA6/635

TOLEZANO, J.E.; ARAÚJO, M.F.L.; VALENTIM, A.M. & BALANCO, J.M.F. — *Leishmania* sp. isolated from peripheral blood leukocytes of patient with cutaneous leishmaniasis in São Paulo State. Previous note. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **48**(1/2):1-3, 1988.

DESCRIPTORS: *Leishmania* sp., isolation from peripheral blood leukocytes; leishmaniasis, mucocutaneous, São Paulo State, Brazil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARAÚJO, M.F.L.; TOLEZANO, J.E.; BALANCO, J.M.F. & VALENTIM, A.M. — *Leishmania* sp. isolated from peripheral blood leukocytes of patients with visceral or cutaneous leishmaniasis. In: REUNIÃO ANUAL SOBRE PESQUISA BÁSICA EM DOENÇA DE CHAGAS, 15º, Caxambu - MG, 1988. *Anais*. p.40.
2. BARBOSA, W.; CZREWUTA, A.C.; OLIVEIRA, O.S.; BARBOSA, F.M.M.; JARDIM, G.V.; MENDONÇA, J.R. & OLIVEIRA, R.L. — *Leishmania* m (misteriosa): provável nova espécie ocorrente em Goiás, isolada do sangue periférico de chagásico crônico. *Rev. Patol. trop.*, **13**:183-193, 1984.
3. BOWDRE, J.H.; CAMPBELL, J.L.; WALKER, D.H. & TART, D.E. — American Mucocutaneous Leishmaniasis. culture of a *Leishmania* species from peripheral blood leukocytes. *Am. J. clin. Pathol.*, **75**:431-438, 1981.
4. DEANE, L.M. & DEANE, M.P. — Observações preliminares sobre a importância comparativa do homem, do cão e da raposa (*Lycalopex vetulus*) como reservatórios de *Leishmania donovani* em área endêmica de calazar, no Ceará. *Hospital*, **48**:61-76, 1955.
5. DEANE, L.M. — *Leishmaniose visceral no Brasil*: estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará. Rio de Janeiro, Serviço Nacional de Educação Sanitária, 1956. 162 p.
6. LAINSON, R. & SHAW, J.J. — Evolution, classification and geographical distribution. In: PETERS, W. & KILLICK-KENDRICK, R., eds. *The Leishmaniasis in Biology and Medicine*. London, Academic Press, 1986. p.1-120.
7. LAINSON, R.; SHAW, J.J.; WARD, R.D.; READY, P.D. & NAIFF, R.D. — Leishmaniasis in Brazil: XIII. Isolation of *Leishmania* from armadillos (*Dasypus novemcinctus*), and observations on the epidemiology of cutaneous leishmaniasis in North Pará state. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **73**:239-242, 1979.
8. LAVERAN, A. — *Leishmanioses*, Paris, Masson, 1917. 521 p.
9. MIGONE, L.E. — Un caso de Kala-azar a Assuncion (Paraguay). *Bull. Soc. Pathol. exot.*, **6**:118-120, 1913.

TOLEZANO, J.E.; ARAÚJO, M.F.L.; VALENTIM, A.M. & BALANCO, J.M.F. — Isolamento de *Leishmania* sp. a partir de creme leucocitário de paciente com leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo. Nota prévia. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):1-3, 1988.

10. RAMOS, R.T.; GRIMALDI, G.Jr. & OLIVEIRA NETO, M.P. — Isolation of *Leishmania* from peripheral blood cells in cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis in Brazil. In: REUNIÃO ANUAL SOBRE PESQUISA BÁSICA EM DOENÇA DE CHAGAS, 9º, Caxambu-MG, 1982. *Anais*. p.134.
11. TOLEDO, L.M.; MARZOCHI, M.C. de A.; COUTINHO, S.G. & GRIMALDI Fº., G. — Ocorrência de formas assintomáticas de leishmaniose visceral humana na localidade de Rio da Prata, Campo Grande, Rio de Janeiro. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 19º, Rio de Janeiro-RJ. 1983. *Anais*. pp. 60-61.
12. TOLEZANO, J.E.; ARAÚJO, M.F.L.; VALENTIM, A.M. & BALANCO, J.M.F. — Isolamento de *Leishmania* a partir de amostras de sangue de pacientes com calazar. Evidência da importância do homem como fonte de infecção? In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PARASITOLOGIA, 10º, Salvador-BA, 1987. *Anais*. p. 142.
13. TOLEZANO, J.E.; ARAÚJO, M.F.L.; BALANCO, J.M.F. & BARCA, M.L. — *Leishmania* sp isolated from blood heart of *Akodon* sp (Rodentia, Cricetidae) caught in Iguape City, São Paulo State, Brazil. In: REUNIÃO ANUAL SOBRE PESQUISA BÁSICA EM DOENÇA DE CHAGAS, 15º, Caxambu-MG, 1988. *Anais*. p. 38.
14. ZELEDÓN, R.; PONCE, C. & MURILLO, J. — *Leishmania herreri* sp. n. from sloths and sandflies in Costa Rica. *J. Parasitol.*, 65:275-279, 1979.

Recebido para publicação em 21 de outubro de 1988.

SOBREVIVÊNCIA DE *TRYPANOSOMA CRUZI* EM *TRITATOMA INFESTANS* MORTOS POR AÇÃO DE INSETICIDA

Nota Prévia

José Eduardo TOLEZANO*
Elizabeth Visone NUNES*
Helena Hilomi TANIGUCHI*

RIALA6/636

TOLEZANO, J.E.; NUNES, E.V.; TANIGUCHI, H.H. — Sobrevivência de *Trypanosoma cruzi* em *Triatoma infestans* mortos por ação de inseticida. Nota prévia. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 48(1/2):5-6, 1988.

DESCRITORES: *Trypanosoma cruzi*, sobrevivência; *Triatoma infestans*.

Na literatura, encontram-se relatos de estudos realizados com o intuito de investigar a capacidade de sobrevivência e a persistência de infectividade de amostras de *Trypanosoma cruzi* quando submetidos a condições ambientais adversas.

WOOD, (1942)⁶ e (1943)⁷, relata a sobrevivência de formas epimastigotas e tripomastigotas de *T. cruzi* em exemplares pertencentes a diferentes espécies de triatomíneos do gênero *Triatoma*, mortos naturalmente ou por ação de calor. Demonstrou a sobrevivência do flagelado em "barbeiros" experimentalmente infectados por até 15 dias após a morte dos insetos e até 41 dias em triatomíneos "semi-mortos".

LUCENA (1957)², examinando *Panstrongylus megistus* coletados naturalmente infectados, e que foram decapitados e mantidos em temperatura ambiente (27-30°C), constatou que os tripanossomos persistiram vivos até 9 dias após a morte dos reduviídeos.

ALVARENGA & MARSDEN (1975)¹, tentando compreender a importância da dessecação das fezes de triatomíneos como fator limitante para transmissão de *T. cruzi* ao homem em áreas endêmicas, observaram que a exposição por 9 horas em

temperatura acima de 30°C interfere diretamente na infectividade de tripanossomatídeos contidos em suspensões fecais.

SOARES & MARSDEN (1979)⁴ relataram a sobrevivência do parasita por 8 e 9 dias, respectivamente em *Triatoma infestans* e *Dipetalogaster maximus* mantidos em temperatura ambiente (26°C) após a morte por decapitação, e cerca de 60 dias em insetos mortos e conservados em refrigerador.

SOARES, MARSDEN & JOHNSON (1986)⁵, estudando novamente o efeito da dessecação das fezes de triatomíneos na sobrevivência de formas metacíclicas de *T. cruzi* em condições controladas de umidade relativa e temperatura, verificaram que, a baixa umidade, tanto a motilidade quanto a infectividade foram perdidas antes de 30 minutos de exposição. Em altas umidades, mesmo após mais de 30 minutos de exposição, motilidade e infectividade foram preservadas, ainda que em graus variados. A exposição das fezes de triatomíneos à temperatura de 33°C mostrou, respectivamente, infecção de 100% dos camundongos após 15 minutos e apenas 3,3% após 30 minutos de exposição.

Na presente nota, relatamos as observações efetuadas em avaliações do tempo de sobrevivência

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

de *T. cruzi* em *T. infestans* mortos por ação de inseticida.

Ninfas de *T. infestans* entre 3º e 4º estádios de desenvolvimento utilizados em xenodiagnósticos aplicados em três pacientes portadores da doença de Chagas na fase crônica, deixados em contato com ambiente pulverizado com Diazinon — 0,0 Diethyl — 0— (2-Isopropyl — 6-Methyl — 4 Pyrimidil) Phosphorothioate³, morreram entre 24 e 48 horas. Todos os triatomíneos mortos foram examinados afim de ser avaliada a sobrevivência dos flagelados.

A sobrevivência do *T. cruzi* foi constatada até o 10º dia após a morte dos reduviídeos, quando foram vistos em grande número e com acentuada motilidade. Embora presentes na "solução intestinal" obtidas destes insetos no 12º dia os parasitas pareciam mortos pela ausência de motilidade e sinais de degeneração. Entre o 15º e o 40º dia após a morte dos "barbeiros" não mais foram observados *T. cruzi*.

Todas as tentativas de avaliação da persistência de infectividade, através de inoculações experimentais em camundongos dos protozoários vistos aos 10º e 12º dias após a morte dos triatomíneos,

resultam sempre negativas. Tendo em vista o pequeno número de observações até aqui realizadas, julgamos não ser possível concluir pela perda da infectividade de *T. cruzi* sobreviventes em triatomíneos mortos por ação de inseticida.

A importância epidemiológica de investigações sobre a sobrevivência e a persistência da infectividade de *T. cruzi* mantido em condições ambientais adversas pode ser relacionado:

- a) à preservação do risco de aquisição da infecção chagásica quando da presença de triatomíneos infectados e mortos naturalmente ou por ação de inseticidas em habitações de áreas endêmicas;
- b) ao risco de infecção acidental para pesquisadores e pessoal técnico auxiliar que trabalhem com triatomíneos infectados; e
- c) à possibilidade de preservação de cepas de *T. cruzi* em condições extremamente mais simples e de menor custo que as técnicas de criopreservação.

Por tudo isso, os resultados preliminares aqui relatados, somados àqueles obtidos por outros pesquisadores, estimulam-nos à continuação de investigações com tais objetivos.

RIALA6/636

TOLEZANO, J.E.; NUNES, E.V.; TANIGUCHI, H.H. Survival of *Trypanosoma cruzi* in *Triatoma infestans* dead by insecticide action. Previous note. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):5-6, 1988.

DESCRIPTORS: *Trypanosoma cruzi*, survival; *Triatoma infestans*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALVARENGA, N.J. & MARSDEN, P.D. — Estudos sobre a persistência de infectividade do *Trypanosoma cruzi*. I. Efeito da temperatura sobre a infectividade de flagelados da amostra Perú de *T. cruzi* obtidos de fezes de triatomíneos *Rev. Soc. bras. Med. Trop.*, 9: 283-287, 1975.
2. LUCENA, D.T. — Persistência do *Trypanosoma cruzi* vivo em triatomíneos mortos. *Rev. bras. Malariol. D. trop.*, 9:177-179, 1957.
3. MATSUMURA, F. — *Toxicology of Insecticides*. New York, Plenum Press, USA, 1975 p.72.
4. SOARES, V.A. & MARSDEN, P.D. — Estudo sobre a persistência de infectividade do *Trypanosoma cruzi*, II. Persistência de infectividade de *T. cruzi* em barbeiros mortos. *Rev. bras. Pesq. méd. e biol.*, 12: 367-370, 1979.
5. SOARES, V.A.; MARSDEN, P.D. & JOHNSON, C. Efeito da dessecação das fezes de triatomíneos na sobrevivência de formas metocíclicas de *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Soc. bras. Med. trop.*, 19:233-238, 1986.
6. WOOD, S.F. — The persistence of *Trypanosoma cruzi* in dead cone-nosed bugs. *Amer. J. trop. Med.*, 22: 613-621, 1942.
7. WOOD, S.F. — Additional notes on the persistence of *T. cruzi* in dead insect vectors. *Bol. South Cal. Acad. Sci.*, 42: 115-127, 1943.

Recebido para publicação em 25 de outubro de 1988.

DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE CORANTES ARTIFICIAIS EM ALIMENTOS*

Mickiko Y. TAKAHASHI**
Helena Y. YABIKU**
Deise A.P. MARSIGLIA**

RIALA6/637

TAKAHASHI, M.Y.; YABIKU, H.Y. & MARSIGLIA, D.A.P. — Determinação quantitativa de corantes artificiais em alimentos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2): 7-15, 1988.

RESUMO: Foi estudada a determinação quantitativa de corantes artificiais em 55 amostras de alimentos comprados no comércio da cidade de São Paulo: balas, pós para pudim, pós para refresco, pós para sobremesa de gelatina, iogurtes, sorvetes e xarope de groselha. A extração para a quantificação foi feita com metanol amoniacal para a maioria dos alimentos, sendo que em iogurtes e sorvetes foi usado o etanol amoniacal. Após a extração foi feita leitura espectrofotométrica na região do visível. O teor de corante foi calculado utilizando os valores de absorvidade de cada um. Em amostras contendo misturas de corantes (amarelo crepúsculo e tartrazina) que absorvem em comprimentos de onda próximos, foi estabelecida uma fórmula baseada na aditividade das absorbâncias para calcular o teor de corante. Os resultados indicam obediência aos padrões determinados pela legislação em vigor.

DESCRITORES: corantes artificiais em alimentos, determinação; alimentos, determinação de corantes artificiais em.

INTRODUÇÃO

Os corantes artificiais pertencem a uma das classes de aditivos permitidos para alimentos, cujo uso está regulamentado pela Tabela I do decreto 55.871 de 26/03/65¹. Segundo esse decreto, considera-se corante “a substância que confere ou intensifica a cor dos alimentos”.

Muitos alimentos industrializados, originalmente não têm cor; em outros, esta é destruída ou alterada durante o seu processamento havendo então a necessidade de se adicionar corante a fim de conferir a cor desejada ou de restabelecer a coloração perdida.

A principal finalidade da adição desses compostos é tornar os alimentos mais atrativos. Sob o ponto-de-vista nutricional, não acrescentam nada ao

alimento. Sob o ponto-de-vista toxicológico, vários estudos têm sido feitos para verificar os efeitos nocivos sobre o homem^{4,6}. Todos os corantes artificiais atualmente permitidos pela legislação brasileira são seguros para o consumo humano, e já possuem valor definitivo de Ingestão Diária Aceitável (IDA)⁵.

Através da portaria nº 2 de 28 de janeiro de 1987, da Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos do Ministério da Saúde, foram retirados da Tabela I cinco corantes artificiais a respeito dos quais não se dispunha de informações suficientes para uma avaliação do grau de risco toxicológico². O Grupo de Peritos em Aditivos Alimentares da FAO/OMS não estabeleceu IDA para esses corantes.

Os corantes artificiais têm seu uso controlado. Nos alimentos constantes da Tabela I é permitido

* Realizado na Seção de Aditivos e Pesticidas Residuais e Seção de Doces e Amiláceos do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

usar 0,01%, havendo uma exceção para os gelados comestíveis, nos quais é permitido usar 0,005%¹. Diante desses fatos, é importante controlar o seu uso, a fim de verificar em que níveis se apresentam nos alimentos, levando à necessidade do estabelecimento de uma metodologia adequada e acessível.

Considerando os alimentos tradicionalmente coloridos, como balas, pós para refresco, pós para pudim, pós para sobremesa de gelatina, iogurtes, sorvetes e xarope de groselha, de grande consumo principalmente por crianças, escolhemos esses alimentos para o estabelecimento de metodologia para análise quantitativa.

MATERIAL E MÉTODO

Foram analisadas as seguintes amostras: 5 balas de goma, 6 balas duras, 10 pós para refresco, 9 pós para pudim, 14 pós para sobremesa de gelatina, 3 iogurtes, 5 sorvetes e 3 xaropes de groselha, num total de 55 amostras.

Método

- a) *Identificação dos corantes artificiais* — a identificação foi feita conforme método constante do "Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz"⁸, quando podemos verificar se a amostra contém um ou mais corantes.
- b) *Quantificação dos corantes artificiais* — para a quantificação dos corantes, é necessário fazer primeiramente a extração dos mesmos dos alimentos. Esta extração difere para cada tipo de alimento. O metanol amoniacal foi usado para a maioria dos alimentos⁷.

Aparelhos

Extrator de Soxhlet
Espectrofotômetro

Reagentes

Metanol com 5% de hidróxido de amônio
Etanol com 5% de hidróxido de amônio
Solução de acetato de amônio 0,02M e pH = 5,6

Procedimento

- a) *Balas de goma, balas duras, pós para pudim e pós para sobremesa de gelatina* — Pesar com precisão cerca de 7g de balas (previamente trituradas), 5g de pós para pudim ou 3g de pós para sobremesa de gelatina em um cartucho para extração em aparelho de Soxhlet. Extrair com metanol amoniacal durante 6 horas aproximada-

mente, ou até que a amostra no cartucho fique incolor. Transferir para um balão volumétrico de 100ml e completar o volume com metanol amoniacal. Centrifugar, se necessário. Ler em espectrofotômetro no(s) comprimento de onda do(s) corante(s) identificado(s), usando como branco a solução de metanol amoniacal.

- b) *Pós para refresco* — Estes alimentos contêm alto teor de açúcar. O corante é facilmente extraído com metanol amoniacal e o açúcar permanece insolúvel. Pesar com precisão cerca de 3g de amostra em um béquer de 200ml, adicionar 30ml de metanol amoniacal e agitar. Deixar decantar e transferir o líquido colorido para um balão volumétrico de 100ml. Repetir a extração com mais duas porções de 30ml de metanol amoniacal ou até que a amostra fique incolor. Completar o volume com a mesma solução. Centrifugar, se necessário. Ler em espectrofotômetro no(s) comprimento(s) de onda do(s) corante(s) identificados(s), usando como branco a solução de metanol amoniacal.
- c) *Sorvetes e iogurtes* — As amostras de sorvetes contêm espessantes que podem ser precipitados com etanol. O açúcar permanece insolúvel nesse solvente, facilitando a extração do corante. Pesar com precisão cerca de 10g de amostra em um béquer de 150ml, adicionar 30ml de etanol contendo 5% de hidróxido de amônio. Agitar e deixar em repouso em geladeira por 4 horas aproximadamente. Após a decantação do líquido colorido, filtrar em funil de Büchner, recolhendo o filtrado em um balão volumétrico de 50ml. Transferir o resíduo para o mesmo béquer e repetir a extração com mais 15ml de etanol amoniacal, até que a amostra fique incolor. Completar o volume. Se a solução ficar turva, colocar o balão em geladeira por 3 horas aproximadamente. Retirar, esperar estabilizar à temperatura ambiente e filtrar em papel de filtro. Ler em espectrofotômetro no(s) comprimento de onda do(s) corante(s) identificado(s), usando como branco, a solução de etanol amoniacal.
- d) *Xarope de groselha* — Pesar com precisão cerca de 5g de amostra e diluir a 100ml em balão volumétrico com solução de acetato de amônio 0,02M. Ler em espectrofotômetro no(s) comprimento de onda do(s) corante(s) identificado(s), usando como branco a solução de acetato de amônio.

Cálculos

- a) Se a amostra tiver um só corante, calcular o teor usando o valor de $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ do respectivo corante, segundo a tabela 1.

TABELA 1

Características espectrofotométricas dos corantes artificiais

Corante	Comprimento de onda nm	E ^{1%} _{1cm}
Amarelo crepúsculo	481	564,1
Azul brilhante	630	1840,0
Azul indigotina	610	449,3
Bordeaux'S	519	436,0
Eritrozina	524	1130,0
Tartrazina	426	536,0
Vermelho sólido E	505	447,9
Vermelho 40	505	536,0
Ponceau 4 R	507	442,5

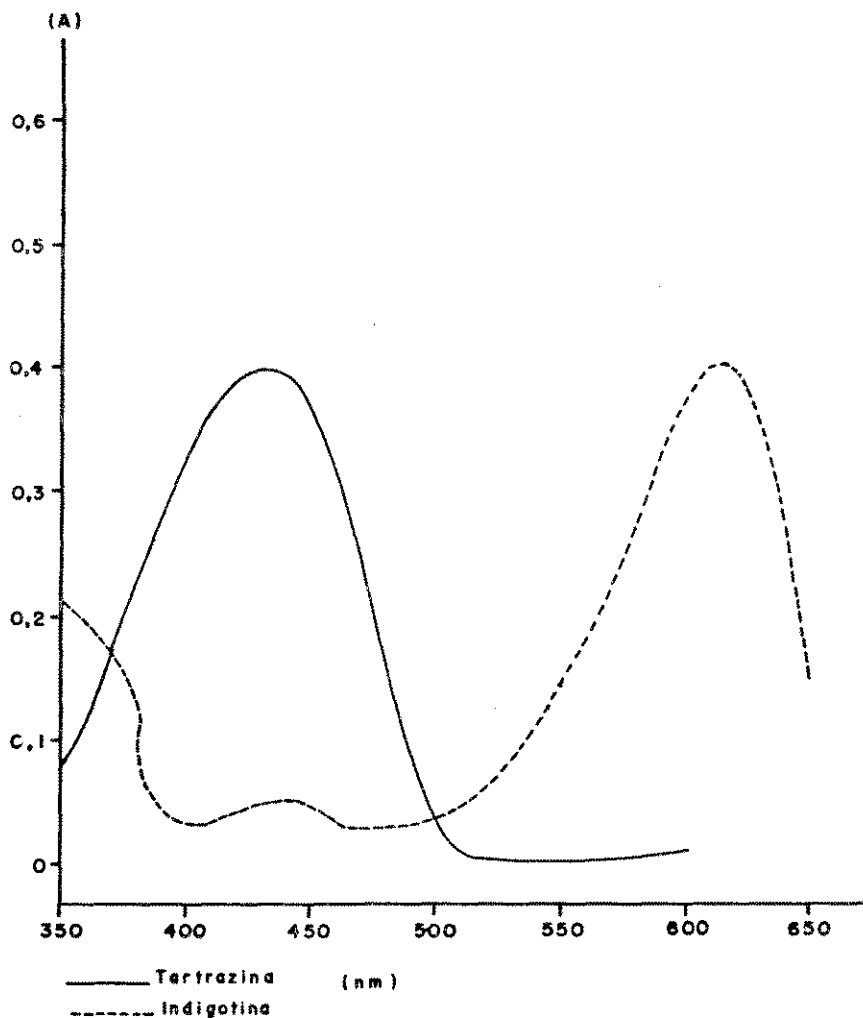


FIGURA 1 — Espectro de absorção dos corantes artificiais tartrazina e indigotina.

b) Se a amostra tiver dois corantes cujas absorções máximas são bem distantes entre si (fig.1), fazer as leituras nos dois comprimentos de onda respectivos, na mesma solução. Como os corantes absorvem em regiões distintas, a absorção de um não interfere na do outro. Calcular o teor de corante usando o valor de $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ de cada corante.

c) Se a amostra tiver dois corantes cujas absorções máximas são bem próximas uma da outra (fig.2), fazer as leituras no comprimento de onda de cada corante, na mesma solução. Como as regiões de absorções máximas são bem próximas, a absorção de um dos corantes interfere na absorção do outro. Em amostras contendo tartrazina e amarelo crepúsculo, ao fazer a leitura a

426nm, na realidade estamos lendo a absorção da tartrazina e mais a absorção do amarelo crepúsculo; a 481nm, estamos lendo a absorção do amarelo crepúsculo e mais a absorção da tartrazina. O que ocorre é a aditividade das absorbâncias. Para a devida correção, estabelecemos valores de $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ a 426nm e a 481nm com o padrão do corante tartrazina com 93,36% de pureza.

Com o padrão do corante amarelo crepúsculo com 90,29% de pureza, estabelecemos os valores de $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ a 426nm e a 481nm, conforme demonstrando na tabela 2.

Substituindo esses valores de $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ na equação de Lambert-Beer, ($A = abc$), a concentração do co-

TABELA 2

Corante	Comprimento de onda nm	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$
Tartrazina	426	535
Tartrazina	481	170
Amarelo crepúsculo	426	221
Amarelo crepúsculo	481	592

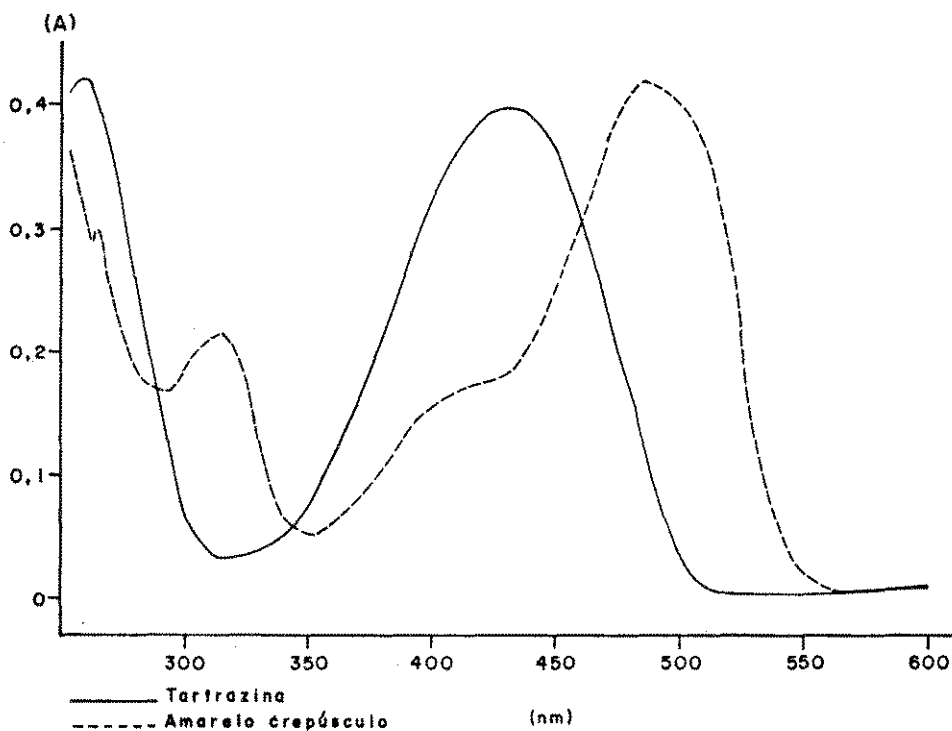


FIGURA 2 — Espectro de absorção dos corantes artificiais tartrazina e amarelo crepúsculo.

TABELA 3

Teores de corantes artificiais (g/100g)

Alimento	Sabor	Tartrazina	Amarelo crepúsculo	Bordeaux'S	Vermelho sólido E	Indigotina
Pós para pudim	Morango	—	—	0,004	—	—
	Caramelo	0,014	—	0,011	—	—
	Baunilha	0,013	0,003	—	—	—
	Morango	—	—	—	0,007	—
Pós para sobremesa de gelatina	Abacaxi	0,012	0,009	—	—	—
	Limão	0,012	0,003	—	—	—
	Uva	—	—	0,013	—	0,002
	Tutti-fruti	0,014	0,016	0,016	—	—
	Morango	—	0,041	0,056	—	—
	Morango	—	—	—	0,013	—
	Cereja	—	—	—	0,011	—
	Groselha	—	—	—	0,011	—
Uva	—	—	—	0,017	0,004	
Framboeza	—	—	—	0,003	—	
Balas duras	Morango	0,003	—	0,006	—	—
	Laranja	0,006	—	—	—	—
	Tangerina	—	0,002	—	—	—
	Limão	0,004	—	—	—	0,001
	Tutti-fruti	0,006	0,003	—	—	—
	Limão	0,014	—	—	—	—
	Morango	—	—	0,010	—	—
Laranja	0,006	0,008	—	—	—	
Pós para refresco	Guaraná	0,075	—	0,022	—	—
	Uva	—	—	—	0,046	0,050
	Laranja	0,036	0,017	—	—	—
	Maracujá	0,020	0,013	—	—	—
	Pêssego	0,005	0,005	—	—	—
	Morango	—	0,057	0,077	—	—

TABELA 4

Teores de corantes artificiais (g/100g)

Alimento	Sabor	Tartrazina	Vermelho sólido E	Eritrozina	Bordeaux'S
Balas de goma	Morango	—	—	0,003	—
	Tangerina	0,009	—	—	—
	Cereja	—	0,011	—	—
Sorvetes	Napolitano	—	0,002	—	—
	Morango	—	0,002	—	—
	Milho verde	0,006	—	—	—
	Morango	—	—	—	0,001
Iogurtes	Morango	—	0,001	—	—

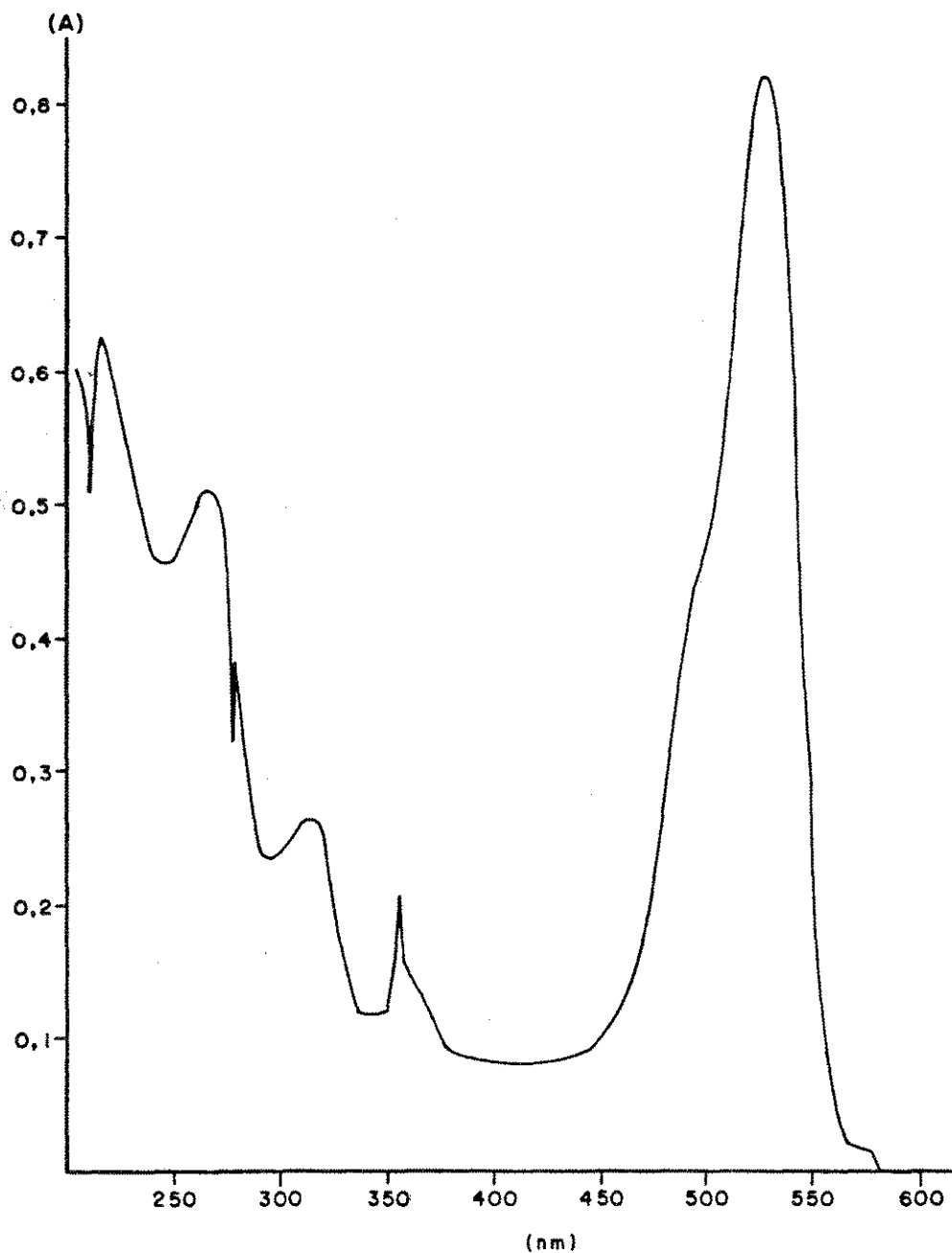


FIGURA 3 — Espectro de absorção do corante eritrozina em solução de acetato de amônio 0,02 M e pH = 5,6.

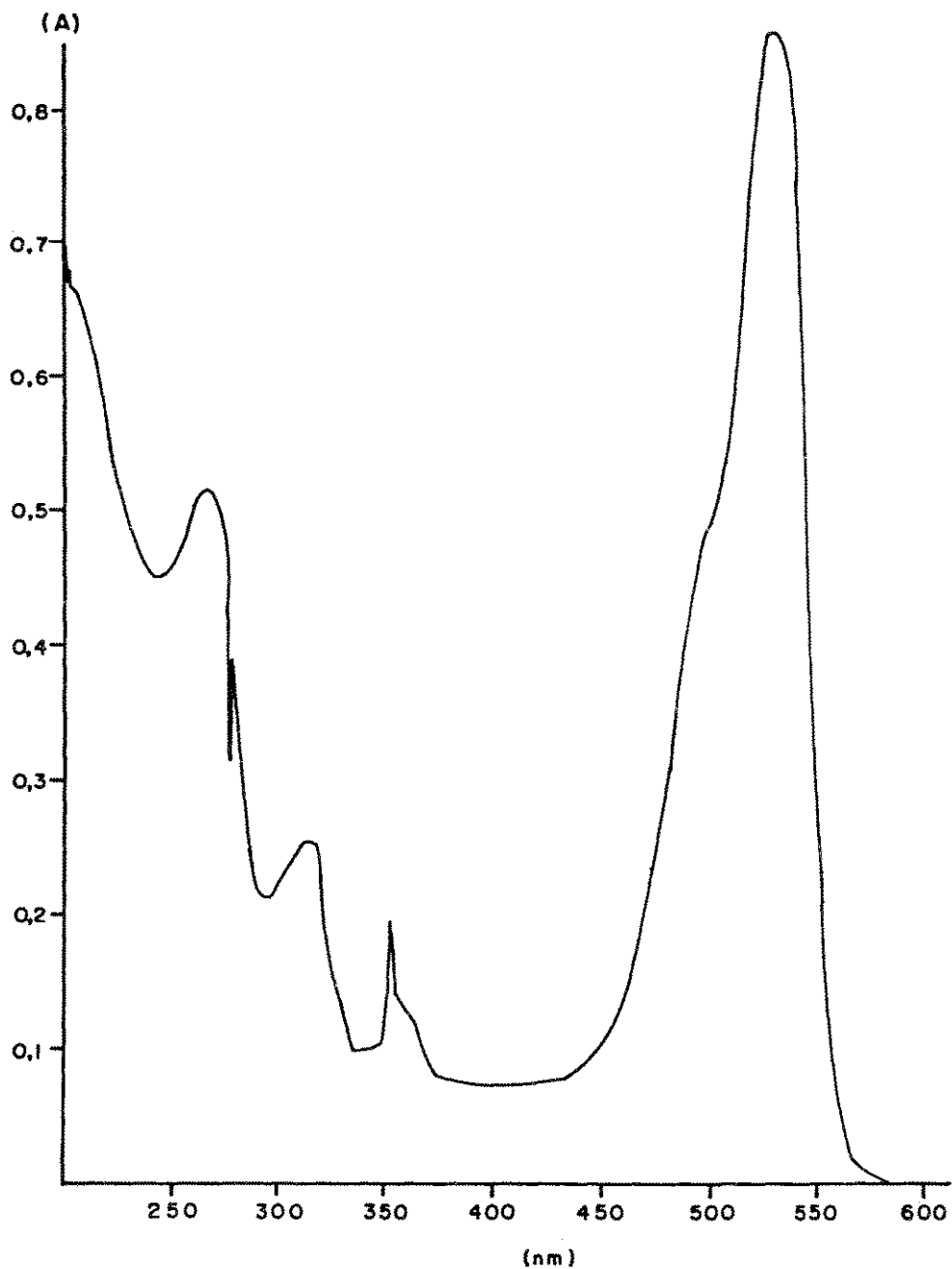


FIGURA 4 — Espectro de absorção do corante eritrozina em solução de metanol com 5% de hidróxido de amônio.

rante é obtida com a resolução do sistema de equação com duas incógnitas:

$A = abc$, sendo $b = 1$,

$$A_{426nm} = 535x + 221y$$

$$A_{481nm} = 170x + 592y$$

Resolvida esta equação temos:

$$x = \frac{2,67(A_{426}) - A_{481}}{1258}$$

$$y = \frac{A_{426} - 535x}{221}$$

onde: x = concentração do corante tartrazina
 y = concentração do corante amarelo crepúsculo

A_{426} = absorvância da solução a 426nm

A_{481} = absorvância da solução a 481nm

Os valores de $E_{1cm}^{1\%}$ da Tabela 2 são valores em solução de acetato de amônio 0,02M e pH = 5,6. Mudando o solvente para metanol amoniacal, não houve alteração da região de absorção máxima do corante. Isso é demonstrado nas figuras 3 e 4 onde constam os gráficos do corante eritrozina em solução de acetato de amônio 0,02M e em solução de metanol amoniacal, respectivamente.

RESULTADOS

A extração dos corantes para a quantificação utilizando metanol amoniacal foi muito eficiente. Para iogurtes e sorvetes, a extração com etanol amoniacal apresentou melhores resultados do que com metanol amoniacal.

Com a utilização da fórmula para o cálculo dos teores de corantes em uma mistura dos corantes amarelo crepúsculo e tartrazina, uma mistura bastante usada, o trabalho foi bastante simplificado, pois não é necessário separar os corantes para quantificá-los separadamente.

Nas tabelas 3 e 4 estão reunidos os teores médios dos corantes artificiais encontrados nos alimentos analisados. Em amostras de pós para refresco, pós para pudim, pós para sobremesa de gelatina e xarope de groselha, é preciso considerar o modo de usar constante da rotulagem, pois os limites máximos permitidos pela legislação em vigor, referem-se ao produto a ser consumido.

CONCLUSÃO

Os teores de corantes artificiais encontrados nas 55 amostras analisadas, de um modo geral, estão de acordo com a legislação vigente, o que indica que os alimentos coloridos estão sendo processados adequadamente.

Em relação à presença do corante vermelho sólido E, um dos corantes retirado da Tabela 1, é preciso esclarecer que este trabalho foi realizado antes de expirar o prazo para a proibição de sua adição nos alimentos.

RIALA6/637

TAKAHASHI, M.Y.; YABIKU, H.Y. & MARSIGLIA, D.A.P. — Quantitative determination of synthetic dyes in foods. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2): 7-15, 1988.

ABSTRACT: Quantitative determination of synthetic food dyes have been studied in the following foods: candies, pudding powders, refreshment powders, gelatin dessert powders, yoghurts, ice-creams and currant syrups. A mixture of ethanol and ammonia was used to the extraction of dyes for their quantification in the majority of the foods. After extracted, dyes have been determined by visible spectrophotometry. It was fixed a formula to calculate amounts of dyes from the sum of absorbances in samples containing mixture of dyes (sunset yellow and tartrazine) with similar wave-length absorbance. Results have shown obedience to legislation.

DESCRIPTORS: dyes, synthetic, in foods, determination; foods, determination of synthetic dyes in.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Leis, decretos etc. — Resolução normativa nº 4/78 da Câmara Técnica de Alimentos do Conselho Nacional de Saúde. *Diário Oficial*, Brasília, 2 out. 1978. Seção I, p. 15944. Atualização das normas sobre gelados comestíveis pré embalados ou não...
2. BRASIL. Leis, decretos etc. — Portaria nº 2, de 28 de jan. de 1987, da Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos do Ministério da Saúde. *Diário Oficial*, Brasília, 9 fev. 1987. Seção I, p. 2017. Exclui os corantes Amarelo ácido, etc. da Tabela I do Decreto 55.871/65.
3. BRASIL. Leis, decretos etc. — Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965. *Diário Oficial*, Brasília, 9 de abr. 1965. Seção I, pt I, p. 3610. Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962.
4. CLODE et alii — Long-term toxicity study of amaranth in rats using animals exposed *in utero*. *Food Chem. Toxicol.* 25(12):937-946, 1987.
5. FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. — Food additives data system. Rome, FAO, 1984. p.43; 47; 60; 95; 109; 171; 172. (FAO Food and Nutrition Paper 30)
6. MAEKAWA et alii — Lack of carcinogenicity of Tartrazine (FD&C Yellow nº 5) in the F344 rats. *Food Chem. Toxicol.* 25(12):891-896, 1987.
7. PUTTEMANS et alii — High pressure liquid chromatographic determination of tartrazine in rice milk following ion-pair extraction with tri-N-octylamine. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 66:670-672, 1983.
8. SÃO PAULO. Inst. Adolfo Lutz — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*, v.1: *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 3ª ed. São Paulo, I.O.E., 1985. p.107-8.

Recebido para publicação em 3 de dezembro de 1987.

AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE MISTURAS UTILIZADAS NO PREPARO DE BEBIDAS LÁCTEAS PARA A MERENDA ESCOLAR*

Neusa V. Valério SILVEIRA**
Marilda DUARTE**
Elizabeth L. CHICOUREL**
Jacira H. SARUWTARI**
Maria Auxiliadora de B. RODAS**

RIALA6/638

SILVEIRA, N.V.V.; DUARTE, M.; CHICOUREL, E.L.; SARUWTARI, J.H. & RODAS, M.A.B. — Avaliação nutricional de misturas utilizadas no preparo de bebidas lácteas para a merenda escolar. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2): 17-19, 1988.

RESUMO: Foram analisadas 111 amostras, de marcas diversas, de misturas para o preparo de bebidas lácteas destinadas ao programa da merenda escolar, no período de janeiro de 1986 a julho de 1987. Foi determinada a composição centesimal e calculado o valor calórico médio do produto analisado. Além de apresentar grande variação de aromas e sabores, este tipo de produto mostrou bom nível de qualidade, sendo que o baixo teor de voláteis sugere vida de prateleira mínima de 90 dias. Estas características mostram que o produto é altamente recomendável num período de escassez de produtos naturais ou para suprir eventuais carências regionais.

DESCRITORES: preparações lácteas para merenda escolar, composição centesimal, valor calórico; merenda escolar, preparações lácteas para, valor nutritivo.

INTRODUÇÃO

A nutrição das crianças, em idade escolar, tem merecido, nos últimos anos, tratamento prioritário dos Governos Federal e Estaduais^{2,4,5,6,7}, os quais vêm aprimorando continuamente o Programa de Merenda Escolar. Este programa visa a atingir toda a população escolar de ensino oficial de 1º grau dos períodos diurno e noturno, tanto de escolas municipais e estaduais, como de particulares vinculadas à rede oficial que oferecem ensino gratuito. A distribuição da merenda é garantida por lei estadual durante todo o ano letivo, e também durante as férias escolares⁶.

A merenda escolar deve proporcionar a cada criança, um valor nutricional de, no mínimo, 300 calorias e 8g de proteínas, atendendo às recomenda-

ções de ingestão diária de nutrientes, proporcionalmente ao tempo em que o aluno permanece na escola⁷. A manutenção do padrão de qualidade dessa merenda exige uma participação efetiva e constante dos órgãos responsáveis por sua análise bromatológica, seja por ocasião das concorrências públicas, quando é exigido o laudo analítico para sua aquisição, ou quando da fiscalização e controle de qualidade desse alimento pelo Departamento de Suprimento Escolar². O produto "mistura para o preparo de bebida láctea" é importante como complemento alimentar na merenda escolar por conter leite, substância de alto valor biológico. Por ser um produto de fácil transporte, pode chegar às escolas distantes onde há carências regionais; e resiste à estocagem por longos períodos de tempo, possibilitando seu armazenamento e posterior utilização em épocas de escassez de produtos naturais.

* Realizado na Seção de Laticínios do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P. Apresentado no 1º Congresso Nacional de Alimentação e Nutrição, São Paulo, S.P., 1987.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

MATERIAL E MÉTODO

Foram analisadas 111 amostras de misturas para o preparo de bebidas lácteas, fabricadas por 13 diferentes indústrias nacionais, e enviadas ao Instituto Adolfo Lutz no período de janeiro de 1986 a julho de 1987, para o controle de sua qualidade^{2,3}. A análise físico-química constou de determinação da composição centesimal do produto, segundo "Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz"¹. O teor de umidade foi obtido por determinação gravimétrica. A análise de lipídio foi realizada por extração contínua no aparelho de Soxhlet, usando éter etílico como solvente, seguida de determinação gravimétrica. A proteína foi dosada pelo método de Kjeldahl, utilizando o fator 6,38. Os carboidratos totais, após hidrólise ácida, e a lactose foram dosados com solução de Fehling, em amostra clarificada com precipitantes (desproteinização)¹.

RESULTADOS

Nos exames dos caracteres organolépticos das misturas lácteas, seu aspecto se apresentou sempre sob a forma de pós solúveis, de consistência fina ou áspera, podendo em ambos os casos conter flocos ou grânulos, e os sabores e aromas eram variados (tabela 1).

Os valores mínimos, médios e máximos das determinações físico-químicas e os valores calóricos das amostras analisadas estão expressos na tabela 2.

A variedade de sabores das misturas lácteas analisadas (21 diferentes sabores) demonstra o esforço da indústria nacional em desenvolver e oferecer várias alternativas à criança em idade escolar. O bom aspecto e a boa solubilidade das misturas, aliados às cores, sabores e aromas característicos de cada amostra, sugerem um produto final de boa aceita-

TABELA 1

Cores e sabores apresentados pelas misturas lácteas

Sabor	Cor	Sabor	Cor
Abacaxi	amarelada	Groselha	rosada
Banana	amarelada	Laranja	alaranjada
Baunilha	amarela	Limão	branco-marfim
Cacau e caramelo	marron claro	Menta	branco-pérola
Café com leite	branco-pérola com pontos marrons	Milho com coco	amarelada
Caramelo	amarelo-âmbar	Milho com chocolate	amarelada com pontos marrons
Cereja	rosa escuro	Milho verde	amarelada
Chocolate	marron	Morango	rosada
Chocolate com gema	marrom-amarelado	Pêssego	rosa-amarelada
Chocolate e coco	Marrom claro	Tutti-frutti	amarelada
Coco	branco-marfim		

TABELA 2

Determinações físico-químicas das misturas lácteas

Determinações diversas	Valores (gramas por 100 gramas)		
	máximo	mínimo	médio
Substâncias voláteis	4,17	0,64	2,39
Lipídios	16,08	1,51	7,54
Proteínas	19,28	7,76	11,89
Lactose	29,41	5,49	14,42
Carboidratos totais	88,73	51,40	74,72
Valor calórico	467	384	425

ção. Foram encontrados teores de umidade bastante baixos, sendo que apenas uma amostra apresentou valor acima de 4%. Esses teores, aliados a outros fatores, podem ser considerados excelentes, uma vez que garantem uma vida de prateleira de no mínimo 3 meses para o produto. Não houve variação significativa nos valores calóricos dos produtos finais, embora os teores de lipídios, protídios e carboidratos totais fossem diferentes em cada tipo de amostra, o que facilita o cálculo para a preparação de cardápios.

CONCLUSÃO

Os exames físico-químicos realizados nestes produtos demonstram que esse tipo de alimento é ade-

quado ao consumo de crianças em idade escolar, dentro dos parâmetros estabelecidos pelo programa de merenda escolar. O interesse do governo em consolidar esse programa tem sido plenamente correspondido pelas indústrias alimentícias, as quais vêm oferecendo grande variedade de sabores e bom nível de qualidade, sempre dentro das normas legais vigentes³. Para manter esse padrão de qualidade e prevenir eventuais desvios, seria desejável que fosse estabelecida legislação específica para o produto, com limites mínimos para teores de caseína e máximo para substâncias voláteis, permitindo o controle da quantidade de leite adicionado ao produto e sua maior vida de prateleira.

RIALA6/638

SILVEIRA, N.V.V.; DUARTE, M.; CHICOUREL, E.L.; SARUWTARI, J.H. & RODAS, M.A.B. — Nutritional evaluation of mixtures used in lacteous beverages for school meal programs. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2): 17-19, 1988.

ABSTRACT: 111 samples of different brands of lacteous beverages used in the official program of school meal were analysed in the period starting January 1986 through July 1987. Determination of its centesimal composition was carried out and the average of its caloric value was calculated. Besides the large variation of flavors this product presented a good level of quality. The low content of moisture indicates a minimum shelf-life of 90 days. These characteristics show that the product is highly recommended for periods of shortage of natural products as well to fulfill eventual regional deficiency of such products.

DESCRIPTORS: milk preparation for school meal, centesimal composition, caloric value; school meal, milk preparation, nutritive value.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 3ª ed. São Paulo, 1976. p. 11, 12, 21, 42, 43, 44, 46.
2. SÃO PAULO. Leis, decretos etc. — Decreto nº 7.510, de 29 de janeiro de 1976. *Diário Oficial*, São Paulo, 30 jan. 1976. p. 12. Reorganiza a Secretaria de Estado da Educação.
3. SÃO PAULO. Leis, decretos etc. — Decreto nº 12.486, de 20 de outubro de 1978. *Diário Oficial*, São Paulo, 21 out. 1978. p. 32-33 (NTA 79). Aprova normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas.
4. SÃO PAULO. Leis, decretos etc. — Decreto nº 22.379, de 19 de junho de 1984. *Diário Oficial*, São Paulo, 20 jun. 1984. p. 1. Dispõe sobre a municipalização da merenda escolar, regulamentando a Lei nº 4.021 de 22 de maio de 1984.
5. BRASIL. Leis, decretos etc. — Decreto nº 37.106, de 31 de março de 1955. *Diário Oficial*, Rio de Janeiro, 2 abr. 1955. Seção I, p. 6051. Institui a Campanha de Merenda Escolar.
6. SÃO PAULO. Leis, decretos etc. — Lei nº 4.021 de 22 de maio de 1984. *Diário Oficial*, São Paulo, 23 maio 1984. p. 1. Transfere às Prefeituras Municipais a prestação dos serviços de fornecimento de merenda escolar, nas condições que especifica.
7. SÃO PAULO. Leis, decretos etc. — Resolução SE 151, de 19 de junho de 1984. *Diário Oficial*, São Paulo, 20 jun. 1984. Seção I, p. 6. Baixa normas para cumprimento do Decreto nº 22.379, de 19 de junho de 1984, que dispõe sobre a concessão de subvenção aos municípios para atender despesas com merenda escolar.

Recebido para publicação em 3 de dezembro de 1987.

ASPECTOS HIGIÊNICO-SANITÁRIOS DA ÁGUA DE POÇOS CAVADOS EM DIFERENTES ÁREAS SÓCIO-ECONÔMICAS DE SÃO PAULO*

Nilva Aparecida R. PEDRO**
Tereza Atsuko KUSSUMI**
Dilma Scala GELLI**
Mitie KAWANO**
Aldo de SOUZA**

RIALA6/639

PEDRO, N.A.R.; KUSSUMI, T.A.; GELLI, D.S.; KAWANO, M. & SOUZA, A. — Aspectos higiênico-sanitários da água de poços cavados em diferentes áreas sócio-econômicas de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):21-27, 1988.

RESUMO: Foram analisadas 248 amostras de água de poços cavados durante o período de um ano, coletadas de 12 pontos de cada uma das duas regiões sócio-econômicas distintas: *a*, com redes de abastecimento de água tratada e serviço de esgoto recém-instaladas e *b*, sem estes serviços de saneamento. As amostras de cada ponto foram obtidas mensalmente. Os dados das determinações químicas mostraram que na região *a*, os níveis de nitrogênio obtidos pela análise química foram baixos e que, na região *b*, estes níveis foram significativos. Pela análise microbiológica, verificou-se que a presença de bactérias do grupo coliforme e dos indicadores de contaminação de origem fecal foram relativamente constantes; diferindo a distribuição de bacteriófagos anti-*Escherichia coli* e *Shigella sonnei* nas duas regiões, assim como a incidência de coliforme de origem fecal nos meses de inverno, em especial na região *b*.

DESCRITORES: águas de poço, determinações químicas e microbiológicas; águas de poço, ciclo de nitrogênio, poluição microbiana em.

INTRODUÇÃO

A análise química e microbiológica da água tem por objetivo a qualificação da mesma, em termos geológicos e higiênico-sanitários. As determinações laboratoriais consideram ambos os aspectos.

Os compostos nitrogenados têm interesse especial. Ocorrem naturalmente no ambiente, em concentrações baixas. Quando estes níveis estão elevados, podem proceder do uso de fertilizantes na agricultura, de detritos animais e vegetais decompostos e de resíduos industriais. Estas contaminações podem penetrar através da superfície ou infiltrar-se no solo, de forma a alcançar o aquífero subterrâneo e, portanto, as águas de poços.

Estes compostos podem ser encontrados nos diversos estágios de decomposição a partir das matérias orgânicas nitrogenadas: amoniacal, albuminóide, nitrito e nitrato. O consumo de nitrato pode ser prejudicial à saúde, provocando o aparecimento de metahemoglobinemia^{1,5,7,10} e, possivelmente, também a formação de nitrosaminas consideradas carcinogênicas^{5,8,9,16}. Já foram registradas intoxicações graves, às vezes fatais, em crianças de até 3 meses de idade, pelo consumo da água contendo acima de 10 mg de nitrato $\text{NO}_3\text{-N}/\text{l}^5$.

No que diz respeito à análise microbiológica, pela legislação brasileira¹², é considerada não potável a água que apresentar bactérias do grupo coliforme em 100 ml da amostra¹². Entretanto, os coliformes

* Trabalho realizado na Seção de Águas e Seção de Microbiologia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

de origem fecal, em especial, a *Escherichia coli*, são os indicadores mais comuns da presença de microorganismos que possam afetar a saúde do consumidor e para caracterização de poluição originária de dejetos fecais de animais de sangue quente^{3,6}. A *E. coli* normalmente não se multiplica e não se mantém viável na água ambiental, tanto por razões de baixas concentrações de nutrientes, como da temperatura adversa².

Os bacteriófagos fecais são formas virais que podem lisar e destruir formas bacterianas. A origem é também de matéria fecal. Como a *E. coli*, não se multiplica no ambiente, porém se mantém por períodos mais longos de tempo. São mais resistentes que a *E. coli* e os estreptococos de origem fecal tanto aos agentes químicos como aos físicos de desinfecção¹⁴. Apesar de ainda não estar bem esclarecido o seu papel de indicador, está intimamente relacionado com a presença de outros vírus entéricos. De qualquer forma, seriam parâmetros considerados mais rígidos na avaliação rotineira da qualidade da água. Pode indicar ainda, as características da flora intestinal da população que originou a contaminação fecal às águas, de acordo com a especificidade de ação sobre espécies bacterianas.

O presente trabalho tem por objetivo avaliar a presença de contaminantes de origem fecal de água de poços cavados em duas regiões periféricas da cidade de São Paulo: Cotia, com rede de água tratada e de esgoto recém-instaladas, e Guarulhos, sem estes serviços básicos de saneamento. As coletas de amostras foram semanais, durante o período de um ano.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisadas 248 amostras de águas, procedentes de 24 pontos de coleta, sendo 12 da região de Cotia e 12 da região de Guarulhos (Bonsucesso). A amostra de cada ponto foi obtida todo mês.

As amostras foram acondicionadas e transportadas em frascos de vidro neutro. Para as determinações químicas, foram coletadas cerca de 2 l de amostra e, para a microbiológica, cerca de 500 ml, em frascos de respectivamente, 2,5 l e de 125 ml, de vidro neutro, com tampa esmerilhada e esterilizados. As amostras foram transportadas sob refrigeração (4 a 8°C). As análises foram iniciadas imediatamente após o recebimento da amostra pelo laboratório.

Os métodos utilizados para as determinações químicas estão descritos na "Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz"¹². A precisão dos métodos utilizados é de: nitrogênio amoniacal $\pm 0,01$ mg $\text{NH}_3\text{-N/l}$, nitrogênio nitroso $\pm 0,01$ mg

$\text{NO}_2\text{-N/l}$, nitrato $\pm 0,01$ mg $\text{NO}_3\text{-N/l}$, cloretos $\pm 0,1$ mg Cl^-/l .

O transporte e as determinações bacterianas foram feitas de acordo com os métodos descritos no "Standard Methods for Examination of Water and Wastewater"¹¹, técnica de tubos múltiplos, usando-se caldo sulfato de lauril para os coliformes e complementação em caldo E.C. (*Escherichia coli*) para a pesquisa dos coliformes de origem fecal. A confirmação dos tubos positivos de caldo de E.C. foi feita em ágar EMB-Levine, e a caracterização das colônias suspeitas foi obtida no meio de Rugai e em caldo lactosado⁴. A pesquisa de bacteriófagos foi realizada conforme descrito por Serres e col.¹⁵, tendo sido usado cepa de *E. coli* 5530 e de *Shigella sonnei* 6310 da Coleção de Culturas do Instituto Pasteur de Paris.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias e a incidência de amostras de acordo e em desacordo com a legislação, quanto aos resultados de análise química, encontram-se relacionados nas tabelas 1, 2 e 3. Considerou-se como período de inverno os meses de maio a agosto e como de verão os demais meses do ano. As amostras foram obtidas no período de outubro de 1985 a outubro de 1986.

A tabela 4 mostra os resultados de análise microbiológica e apresenta a incidência de amostras positivas/total analisadas (e percentagem) para as bactérias do grupo coliforme de origem fecal e de bacteriófagos fecais-colifagos e Shigelafagos; por região e época sazonal. Presença em 100 ml.

O saneamento básico na região de Guarulhos é deficiente, e com frequência são encontrados poços cavados a pouca distância de fossas negras. O nível de contaminação mais acentuado foi de nitrogênio nítrico, tendo sido encontrados teores de até 26,0 mg por litro. O teor máximo tolerado pela legislação brasileira é de 10,0 mg por litro¹³. Constatou-se que 33% dos poços continham teores acima do tolerado, nos meses de verão; nos meses de inverno essa incidência se reduzia a 17%. Quanto ao nitrogênio nitroso, 11% dos poços apresentaram teores acima do tolerado no verão, sendo que, nos meses de inverno, todos apresentaram valores tolerados. Excepcionalmente, verificou-se que 20% dos poços apresentaram teores acima do tolerado, tanto no verão quanto no inverno, para o nitrogênio amoniacal¹³.

Em Cotia, onde parte da população ainda faz uso de água de poço, até completa adequação à rede de distribuição de água recém-instalada, os níveis de contaminação foram baixos, inclusive no verão,

TABELA 1

Média dos resultados químicos por ponto da região de Cotia

Local	Período da coleta	Nam (mg/l)	Nalb (mg/l)	NO ₂ ⁻ (mg/l)	NO ₃ ⁻ (mg/l)	Cl ⁻ (mg/l)
1	V	0,02	0,02	0,00	0,06	2,8
1	I	0,00	0,00	0,00	0,13	2,4
2	V	0,04	0,07	0,00	0,01	2,6
2	I	0,03	0,03	0,00	0,11	2,7
3	V	0,01	0,02	0,00	1,47	3,9
3	I	0,00	0,00	0,00	0,79	6,0
4	V	0,15	0,13	0,00	0,08	2,5
4	I	0,00	0,00	0,00	0,12	3,5
5	V	0,03	0,03	0,00	0,07	3,4
5	I	0,00	0,00	0,00	0,13	3,5
6	V	0,01	0,01	0,00	0,21	3,4
6	I	0,00	0,00	0,00	0,17	3,1
7	V	0,06	0,07	0,01	0,99	4,8
7	I	0,00	0,00	0,00	0,76	4,0
8	V	0,00	0,01	0,00	0,69	2,9
8	I	0,00	0,00	0,00	0,63	3,3
9	V	0,10	0,11	0,01	7,64	14,4
9	I	0,00	0,00	0,00	5,88	17,5
10	V	0,00	0,02	0,00	0,77	2,3
10	I	0,00	0,00	0,00	0,51	2,6
11	V	0,00	0,01	0,00	0,11	2,0
11	I	0,00	0,00	0,00	0,13	1,6
12	V	0,01	0,01	0,00	0,15	2,1
12	I	0,00	0,00	0,00	0,12	2,5

Meses de inverno (I): maio a agosto.

Meses de verão (V) : demais meses durante o período anual.

tendo sido constatada apenas uma amostra com teor de nitrato acima do tolerado naquela estação do ano. Nenhum poço apresentou teor de nitrogênio nitroso acima do valor máximo tolerado pela legislação durante o período considerado. Nos meses de verão, 11,5% dos poços apresentaram nitrogênio amoniacal, e no inverno esta incidência se reduziu a 1%. Para o nitrogênio albuminóide, 6% dos pontos de coleta apresentaram valores acima do tolerado nos meses de verão, enquanto no inverno todos se enquadraram na legislação vigente, quanto a este parâmetro¹³. Nas tabelas 1 e 2 estão expressos os resultados das médias por ponto de coleta. Na tabela 3 está a percentagem de pontos aprovados ou não, considerando-se os níveis legais tolerados. Em ambas as regiões, o número de poços não aprovados foi maior no verão.

Para a obtenção dos dados da análise microbiológica, considerou-se as bactérias do grupo coliforme de origem fecal ou não^{1,4,11}, conforme descrito no item Materiais e Métodos. Os bacteriófagos causaram lise completa da cultura correspondente (*E. coli* e/ou *Shigella sonnei*)¹⁵. As lises incompletas foram confirmadas por microscopia eletrônica, quando se evidenciou as formas virais.

Os coliformes de origem fecal, na região de Guarulhos, mostraram queda moderada nos meses de inverno; o mesmo não ocorrendo na região de Cotia.

Em Guarulhos, onde as águas de poços estavam sendo efetivamente usadas, os resultados foram variáveis de acordo com a estação do ano, por proces-

TABELA 2

Média dos resultados químicos por ponto da região de Guarulhos

Local	Período da coleta	Nam (mg/l)	Nalb (mg/l)	NO ₂ ⁻ (mg/l)	NO ₃ ⁻ (mg/l)	Cl ⁻ (mg/l)
1	V	0,01	0,01	0,00	8,03	13,3
1	I	0,00	0,01	0,00	4,16	14,4
2	V	0,00	0,01	0,01	7,77	21,4
2	I	0,00	0,00	0,00	4,15	14,1
3	V	0,02	0,02	0,00	1,52	3,3
3	I	0,02	0,01	0,00	1,13	7,0
4	V	0,10	0,06	0,00	10,38	19,7
4	I	0,02	0,02	0,00	5,00	13,3
5	V	0,06	0,05	0,00	3,33	6,6
5	I	0,08	0,03	0,00	2,05	5,0
6	V	0,06	0,01	0,00	8,51	10,1
6	I	0,02	0,02	0,00	4,80	13,5
7	V	1,59	0,15	0,00	0,11	17,7
7	I	1,43	0,13	0,00	0,12	11,5
8	V	0,51	0,13	0,01	25,12	32,3
8	I	0,34	0,22	0,00	0,22	5,0
9	V	25,21	0,29	1,25	25,81	64,4
9	I	11,63	0,24	0,02	10,00	38,5
10	V	0,04	0,04	0,00	23,25	119,3
10	I	0,09	0,05	0,00	13,95	156,8
11	V	0,00	0,05	0,00	1,14	5,4
11	I	0,09	0,05	0,00	0,60	4,0
12	V	0,00	0,01	0,00	3,82	9,9
12	I	0,09	0,05	0,00	2,34	6,9

Meses de inverno (I) : maio a agosto.

Meses de verão (V) : demais meses durante o período anual.

TABELA 3

Incidência das amostras de acordo, em desacordo, segundo a legislação

Período	Cotia			Guarulhos		
	Amostras			Amostras		
	Total nº	Desacordo nº (%)	Acordo nº (%)	Total nº	Desacordo nº (%)	Acordo nº (%)
Verão	80	14 (17,5)	66 (82,5)	53	34 (64,2)	19 (35,8)
Inverno	43	1 (2,3)	42 (97,7)	40	16 (40,0)	24 (60,0)

TABELA 4

Incidência de amostras positivas/total analisadas (e percentagem)

Bactérias e fagos	Cotia			Guarulhos		
	nº e (%) de amostras			nº e (%) de amostras		
	Total	Verão*	Inverno*	Total	Verão*	Inverno*
C	74/86 (86,05)	56/65 (86,15)	18/21 (85,71)	54/73 (73,97)	42/56 (75,00)	12/17 (75,59)
CF	34/86 (39,53)	26/65 (40,00)	8/21 (38,09)	33/73 (45,20)	27/56 (48,21)	6/17 (35,29)
BEC	12/81 (14,00)	9/60 (15,00)	3/21 (14,28)	1/50 (2,00)	1/31 (3,22)	0/19 (0,00)
BS	7/81 (0,86)	7/60 (11,00)	0/21 (0,00)	6/50 (12,00)	1/31 (3,22)	5/19 (26,31)

* Inverno: meses de maio, junho, julho e agosto.

* Verão: meses de janeiro a abril e de setembro a dezembro.

C: Bactérias do grupo coliforme

CF: Bactérias do grupo coliforme de origem fecal

BEC: Colifago

BS: Shigelafago

so de esgotamento e substituição de água e de contaminantes. Os resultados de coliformes de origem fecal e de presença de bacteriófagos fecais nos meses de inverno e de verão são indicativos desta ocorrência e da presença de bacteriófagos fecais nos meses de origem fecal, há aumento significativo de bacteriófagos fecais anti-*Shigella*.

Na região de Cotia, onde a utilização da água deveria ser em menor quantidade, os contaminantes se mantiveram em níveis próximos nos meses de inverno e verão. Este fato sugere a presença de fonte de contaminação contínua, talvez por esgoto ainda não depurado. Esta região apresentou incidência maior de colifagos do que a região de Guarulhos. Este dado permite considerações a respeito da flora bacteriana intestinal da população local — a *E. coli* predominante, portanto flora normal, com conseqüente incidência maior de fagos para esta bactéria. Os dados sugerem alteração da flora intestinal, com introdução da *Shigella* sp, nos meses de verão.

Os resultados de incidência de bacteriófagos, portanto, permite discussão sobre os aspectos da flora intestinal das populações de classe a e b. Nesta última, a incidência de colifagos é menor que a de

fagos anti-*Shigella sonnei*, sugerindo tratar-se de população carente, com flora intestinal alterada e condições de higiene precárias, onde a *Shigella*, patógeno exclusivamente humano, está presente. Os fagos estão associados às bactérias que as lisam, uma vez que só se multiplicam no interior das mesmas. A menor incidência de colifagos se associa naturalmente a quantidade menores de *E. coli* no material fecal e vice-versa.

Quando aos coliformes totais, verificou-se sua presença, com pequena variação nos meses de inverno/verão em ambas as localidades.

O processo de decomposição de material orgânico é acelerado em temperaturas mais elevadas. O aparecimento de maiores concentrações de espécies nitrogenadas no nitrato, nos meses de verão, é bastante evidente nos resultados obtidos. Entretanto, houve evidência química de intermitência de poluição das águas, pela presença em níveis equivalentes, de nitrogênio amoniacal em ambas as épocas estudadas — temperatura ambiental quente e/ou de inverno — e aumento de nitrogênio albuminóide nos meses de inverno, no que se refere à região b, que estava efetivamente utilizando a água de poços.

CONCLUSÃO

1. As determinações químicas permitem concluir a maior influência de valores ambientais nos níveis de contaminação.
2. Em nosso meio, no que se refere aos anos em estudo (1985/1986), a poluição das águas por agentes microbianos não mostrou diferença significativa nos meses de inverno/verão. Este fato está provavelmente associado à constância de poluição, o que também indica a presença de nitrogênio amoniacal e nitrogênio albuminóide.
3. É necessária infra-estrutura de saneamento nas localidades carentes, da região *b*, pela evidência

de introdução e instalação de agentes entéricos responsáveis por patologias na comunidade.

4. É importante efetuar levantamentos de maior abrangência — período e área — para o correto dimensionamento do problema, inclusive com associação da incidência de patologias entéricas nas comunidades das regiões *a* e *b*.

Agradecimentos

Agradecemos à Seção de Meios de Cultura pelo preparo dos meios utilizados e pela desinfecção, lavagem e esterilização da vidraria; aos Técnicos de Laboratório: José A. Marchi, Denis F. da Silva e Roberto Cotrim pela coleta das amostras de água e à Seção de Microscopia Eletrônica.

RIALA6/639

PEDRO, N.A.R.; KUSSUMI, T.A.; GELLI, D.S.; KAWANO, M. & SOUZA, A. — Sanitarian aspects of well's water of different social-economical areas in São Paulo, Capital. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):21-27, 1988.

ABSTRACT: It was analysed 248 samples of well's water in two areas: one considered as a middle-high social community, with treated water supply and wastewater disposal recently provided, and the other considered as a middle-low social area, without those sanitarian services. This research was conducted during 12 months, with weekly collectings of 12 points in each area, seeking to observe the monthly data of each point. The analytical determinations were chemical and microbiological. Results indicated low, practically insignificant, chemical contamination by ammoniacal and albuminal nitrogen, nitrite and nitrate in well's water from the area classified as middle-high. Otherwise, these contaminants were found in significant levels in well's water from the other area. The microbiological study has shown the presence of group coliform bacteria, fecal origin coliforms and bacteriophages anti *Escherichia coli* and *Shigella sonnei* in both areas. The phage distribution was not similar in these areas. Coliphage's quote was higher in the middle-high social community, where *Shigella*-phage was only found in summer months. In the other area, *Shigella*-phage was more frequent in winter months, when it was observed a depression of fecal origin coliforms.

DESCRIPTORS: waters, well, chemical and microbiological determinations; waters, well, nitrogen cycle, microbial pollution.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION — *Standard methods of water and wastewater*. 16th ed. Washington, APHA, 1985. p.373-412; 870-82.
2. DEANER, D.G. & KERRI, K.D. — Regrowth of fecal coliforms. *J. amer. Water Works Assoc.*, 61:465, 1969.
3. GELDREICH, E.G. — Conventional bacteriological indicators of the water quality; In: SEMINARY ON MICROBIAL INDICATORS OF POLLUTION & HEALTH HAZARDS, São Paulo, 1978. [Mimigr.]
4. GELLI, D.S.; TACHIBANA, T. & SAKUMA, H. — Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli* e de bactérias mesófilas em ostras. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39:61-6, 1979.
5. HANDBOOK of public water systems. Edited by Robert B. Williams & Golda L. Culp. New York, Van Nostrand, 1986. p.25-6.
6. HENDRICKS, C.W. — Increased recovery rate of *Salmonellae* from stream bottom sediments versus surface waters. *Appl. Microbiol.*, 21:379-80, 1971.
7. HUNTER, H. & COMLY, Y.D. — Cyanosis in infant caused by nitrites in well water. *J. amer. med. Assoc.*, 129:111-6, 1945.

PEDRO, N.A.R.; KUSSUMI, T.A.; GELLI, D.S.; KAWANO, M. & SOUZA, A. — Aspectos higiênico-sanitários da água de poços cavados em diferentes áreas sócio-econômicas de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):21-27, 1988.

8. KOSAKA, H. & TYUMA, I. — Mechanism of auto-catalytic oxidation of oxyhemoglobin by nitrite. *Environ. Health Perspect.*, 73:147-51, 1987.
9. LIJINSKY, W. & EPSTEIN, S.G. — Nitrosamines as environmental carcinogens. *Nature (Lond.)*, 225:21-3, 1970.
10. NICHOLS, M.S. — Nitrate in the environment. *J. amer. Water Works Assoc.*, 57:1319-27, 1965.
11. RUGAI, E. & ARAUJO, A. — Meio de cultura para identificação presuntiva de bacilos intestinais gram-negativos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 28:79-83, 1968.
12. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. v.1: *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. São Paulo, Imprensa Oficial do Estado, 1985. p.302-30.
13. SÃO PAULO. Leis, decretos etc. — Decreto n° 12.486 de 20 de outubro de 1978. São Paulo, Imprensa Oficial do Estado, 1979. p.280-2. [NTA 60]
14. SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE INDICADORES MICROBIOLÓGICOS DE CONTAMINAÇÃO, São Paulo, 1978. *Conclusões e Recomendações*. São Paulo, CETESB, 1978. 37p.
15. SERRES, L.; AMARIGLIO, A. & PETRANSXIE-NE, D. — *Contrôle de qualité des produits laitiers*. Tome 2: *Analyse microbiologique et analyse sensorielle*. Issy-les-Moulineaux, Ministère de l'Agriculture (1973). [MICR-IV-A]
16. YOSHIDA, K. & KOSAMA, K. — Biotransformation of nitric oxide. *Environ. Health Perspect.*, 73:201-6, 1987.

Recebido para publicação em 13 de janeiro de 1988.

HANSENÍASE: A LEPROSA SOB A MIRA DA LEI

José Leopoldo Ferreira ANTUNES*
Olaivo Viana COSTA**
Maria Helena Oliva AUGUSTO***

RIALA6/640

ANTUNES, J.L.F.; COSTA, O.V.; AUGUSTO, M.H.O. — Hanseníase: a lepra sob a mira da lei. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):29-36, 1988.

RESUMO: O presente estudo expõe e analisa a evolução recente das políticas públicas a nível federal que incidem sobre o controle e combate às moléstias infecto-contagiosas em geral, e à hanseníase em particular. Com essa finalidade são coligidos e apresentados os conteúdos de uma série de documentos legais integrantes da Legislação Sanitária Federal, que foram sancionados pelo Congresso Nacional, ou emitidos pelas agências do Poder Executivo Central incumbidas da promoção, preservação e recuperação da saúde no Brasil. A discussão das ações e medidas de iniciativa pública visando à profilaxia e assistência das doenças infecciosas possibilitou a apreensão de uma mudança na orientação da intervenção estatal no setor saúde, ocorrida em meados da década passada. Expressa de modo sintético pela alteração da nomenclatura oficial relativa à hanseníase/lepra, a nova postura da rede de Saúde Pública é tematizada criticamente por sua tentativa em objetivar e instituir na sociedade brasileira a noção de "Estado benfeitor".

DESCRITORES: hanseníase, legislação sanitária federal brasileira; moléstias transmissíveis, assistência, profilaxia; lepra; doenças transmissíveis.

APRESENTAÇÃO

Embora o impacto da ação governamental sobre as condições reais de saúde da população seja um tema clássico das disciplinas e discussões que enfocam questões de saúde coletiva, a colaboração destas iniciativas à instituição do Estado brasileiro parece ter sido negligenciada, e a literatura sanitária tem se limitado à abordagem das configurações inusitadas e alarmantes que, ao longo da história, implicaram em medidas mais severas. O trabalho que ora se apresenta não pretende suprir essa necessidade, mas apenas apontá-la num tópico onde ela — seja pelo vulto cotidiano e ordinário da intervenção estatal, seja pela ausência de reações sociais expressivas — não fora reconhecida: o controle e profilaxia das doenças infecciosas em geral, e da hanseníase em particular.

O presente estudo tem por escopo indicar a evolução recente das políticas públicas que incidem sobre o combate às moléstias transmissíveis, e o sentido que imprimem à ação do Estado no setor saúde. A atenção oficial à hanseníase é focalizada a título de estudo de caso ilustrativo e esclarecedor da problemática levantada. Com esse intuito, selecionamos e discutimos uma série de dispositivos legais integrantes da Legislação Sanitária Federal que visavam à promoção, preservação e recuperação da saúde no Brasil, e que foram regulamentados nas últimas décadas.

A coleta de textos legais foi efetuada junto ao Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade de São Paulo — SIBI/USP e ao Serviço de Documentação da Assembléia Legislativa do Estado de São Paulo; e para a reprodução e processamento in-

* Pesquisador Científico do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Analista de Dados da Fundação SEADE, São Paulo, SP.

*** Professora Assistente-Doutora do Departamento de Sociologia da Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas — FFLCH/USP, São Paulo, SP.

formático dos arquivos contamos com o subsídio da Organização Pan-Americana da Saúde — OPAS. Para facilitar a consulta de eventuais leitores com interesses específicos na problemática levantada, grifamos o código de acesso de cada documento legal apenas na primeira vez em que ele fora mencionado.

QUADRO EXPOSITIVO DA LEGISLAÇÃO SANITÁRIA FEDERAL

Um primeiro momento delimitado para a análise é inaugurado pela *Lei N.º 2.312*, de 3 de setembro de 1954, já revogada, que instituiu normas gerais sobre defesa e proteção da saúde. Se, desde o Império, a ação sanitária do Estado brasileiro sempre se pautou por inúmeras atividades de polícia civil e pelo controle da vida em cidades¹, esse instrumento legal, sem fugir à regra, procurava amenizar o caráter coercivo da iniciativa pública no setor saúde, e indicava-lhe um novo referencial: a defesa e a promoção da saúde do indivíduo. Esta era a finalidade estabelecida logo em seu primeiro artigo, como “dever do Estado, bem como da família”^{2,3}. O paradoxo de uma lei federal dedicar-se a reger a conduta familiar é apenas aparente, e a peculiar associação entre Estado e família apenas reafirma a disposição das autoridades sanitárias em legitimar sua intervenção social através da afirmação de vínculos entre os ideais que as motivam e aqueles mais difusos na coletividade.

Embora seu artigo 28º estipulasse um prazo de 120 dias para a regulamentação desta lei, isso apenas aconteceu em 21 de janeiro de 1961, quando o *Decreto N.º 49.974-A* baixou o “Código Nacional de Saúde” a ser observado em todo o território brasileiro. As disposições normativas fixadas por esse decreto abordavam os diversos aspectos relativos a seu título tão amplo, e referiam-se aos vários temas da proteção, promoção e recuperação da saúde. Dentre eles, seus dois primeiros capítulos trataram da profilaxia das doenças transmissíveis, explicitando a metodologia a ser adotada em sua prevenção e controle.

O artigo 9º apresentou uma relação das doenças cujos casos suspeitos ou confirmados deveriam ser obrigatoriamente notificados às autoridades sanitárias, por intermédio dos serviços de saúde. Embora essa lista tenha sido alterada com o tempo, através de outros textos legais (como as *Portarias do Ministério da Saúde BSB N.º 314/76*^{2,3} e *BSB N.º 608/79*³) que procuravam contemplar as necessidades conjunturais da vigilância epidemiológica, importa reter o procedimento formal da notificação compulsória de doenças, em vigor no período. Ela deveria ser processada pelo médico que tivesse assistido ao paciente, ou que apenas tomasse conheci-

mento do caso; pelo responsável pelo laboratório que houvesse obtido resultado positivo para uma das afecções citadas; ou por quaisquer pessoas que residissem ou lidassem com o enfermo. Previa-se que a notificação compulsória poderia ser sigilosa, presumivelmente para não intimidar o informante ou prejudicar ainda mais o paciente; e que seria mais urgente quando se tratasse de doenças quarentenáveis citadas pelo Regulamento Sanitário Internacional: cólera, febre amarela, peste, varíola, tifo exantemático e febre recorrente.

A notificação de doenças transmissíveis implicava em diversas medidas que visavam a impedir sua disseminação. Os serviços de saúde encarregar-se-iam de, em cada caso, confirmar o diagnóstico e realizar uma investigação epidemiológica que esclarecesse sua etiologia. Além disso, deveriam manter a vigilância sobre as áreas em que ocorressem essas doenças, determinando como proceder o controle e coibir sua propagação.

Em circunstâncias especiais não especificadas à letra da lei, a autoridade sanitária poderia exigir o isolamento nosocomial ou domiciliar dos contagiantes: os portadores de germes e seus comunicantes. A imposição de quarentenas e a suspensão do direito de ir e vir, previstas pelo artigo 11º, eram reforçadas pelo artigo 16º, que permitia o recurso às autoridades policiais para a execução integral das providências profiláticas das doenças transmissíveis. Do ponto-de-vista do enfermo, esta era a medida mais drástica e dolorosa imposta pelo decreto. Contrabalançando-a, o artigo 23º, que resumia as atividades contra as doenças transmissíveis, incluía medidas médico-assistenciais, de assistência social, de readaptação e de reabilitação. Desse modo, a legislação sanitária explicitava o fato de que a recuperação da saúde e a reintegração social do doente, além de possuírem um ineludível valor intrínseco, exerciam destacada função higiênica, e contribuíam à prevenção das infecções.

Os artigos 8º e 131º determinaram que o Ministério da Saúde elaborasse normas técnicas especiais para os diversos tópicos abrangidos pelo decreto, e em particular para o controle e combate às várias doenças transmissíveis. Uma vez aprovados pelo Conselho Nacional de Saúde, esses dispositivos seriam baixados por decretos passíveis de atualização periódica, passando a integrar o Código Nacional de Saúde. Dentre as muitas normas técnicas emanadas nos anos seguintes, o *Decreto N.º 968* do Conselho de Ministros, emitido em 7 de maio de 1962, e assinado por Tancredo Neves durante a breve experiência parlamentar do período, promulgava a estratégia do combate à lepra no país.

A tendência já detectada, em conjugar as medidas de controle e intervenção social com as de as-

sistência, também se refletiu nesse decreto, e ele as apresentou de modo concomitante, sem sugerir a prevalência de umas sobre as outras, e temperando o rigor das determinações profiláticas da infecção leprosa com o lenitivo da prestação de serviços assistenciais de vários tipos.

Do ponto-de-vista analítico, entretanto, poderíamos distinguir numa primeira série as iniciativas centradas na assistência médica e social aos enfermos. O tratamento era estipulado como obrigatório e, quando realizado nas entidades oficiais, seria gratuito. Além dos dispensários e sanatórios para doentes de lepra, a terapêutica poderia ser prestada nos domicílios que não fossem de habitação coletiva, como pensões e cortiços, ou em clínicas especializadas; e deveria incluir meios de prevenção e correção cirúrgica das deformidades, e exames de controle a cada três meses. Articulada ao tratamento, a assistência social aos enfermos, internados ou não, também era incumbida ao Estado, e visaria a sua recuperação ocupacional, sua readaptação e reintegração social, além de procurar estabelecer nos leprosários “condições de vida digna e confortável, e que se aproxime tanto quanto possível, do convívio em sociedade”^{2,3}. Caberia ainda ao governo a organização de cursos e estágios para profissionais de saúde, promover campanhas de educação sanitária junto à população em geral, e incentivar as instituições que efetuassem estudos e pesquisas “objetivando armas específicas contra a referida doença”^{2,3}.

Por outro lado, contudo, um segundo conjunto de resoluções fora inspirado em antigas convicções de que o contágio poderia ser obstado através do isolamento dos portadores do bacilo de Hansen. Assim, o decreto previa limites ao direito de movimentações dos enfermos que não acatassem as determinações relativas ao seu tratamento regular ou as recomendações que visassem a eliminar o risco de disseminação da moléstia; daqueles que não possuísem domicílio em condições de atender os critérios de proteção aos demais conviventes; ou não reunissem condições econômicas que garantissem sua subsistência na forma requerida por seu estado de saúde. Nesses casos, o isolamento do paciente deveria ser aplicado mediante internação nos leprosários públicos, ou em particulares submetidos à supervisão oficial. Os doentes de lepra ainda ficavam sujeitos à suspensão de outros direitos de cidadania: o desempenho de emprego ou profissão que os pusessem em contacto direto com o público, e a integridade da unidade familiar. O artigo 10º determinava que as crianças nascidas em focos de lepra fossem afastadas de seus pais, à critério da autoridade sanitária competente, e que as crianças nascidas em leprosários fossem “imediatamente afastadas da genitora e colocadas de preferência em meio familiar, em pupileiras comuns e na sua falta, em estabelecimentos

especializados”^{2,3}. Além dessas providências, o Decreto fixava regras para a vigilância dos enfermos não internados, dos casos suspeitos e dos contactos; para a verificação de notificações e denúncias; para a realização de exames em grupos populacionais de interesse epidemiológico e para a investigação de focos.

Outros documentos legais do período são relevantes para o estudo retrospectivo da intervenção sanitária federal relativa à lepra. O destaque a seguir registra aqueles explicitamente vinculados ao tema, os quais configuram a infra-estrutura institucional dirigida a essa doença:

— a *Lei N.º 3.542* (11/02/59) instituiu a Campanha Nacional contra a Lepra sob a direção do Serviço Nacional de Lepra do Departamento Nacional de Saúde do Ministério da Saúde;

— o *Decreto N.º 57.632* (14/01/66) baixou normas técnicas especiais para a defesa sanitária do país nas atividades referentes à saúde internacional, e definiu do ponto-de-vista epidemiológico a nomenclatura e o conteúdo das medidas contrárias à “migração” das endemias;

— a *Lei N.º 5.511* (15/10/68) submeteu a Campanha Nacional contra a Lepra ao regime previsto pela *Lei N.º 5.026/66*, que estabelecera normas gerais para a instituição e execução das campanhas de Saúde Pública promovidas pelo Ministério da Saúde;

— o *Decreto-Lei N.º 785* (25/08/69) definiu as infrações às normas de saúde, escalonou-as nos graus “leve”, “grave” e “gravíssima”, e dimensionou as respectivas penalidades;

— o *Decreto N.º 66.623* (22/05/70) reorganizou administrativamente o Ministério da Saúde, e criou a Divisão Nacional de Lepra, sucedânea do Serviço Nacional de Lepra, então extinto;

— a *Portaria N.º 219 do Ministério da Saúde* (29/07/70) aprovou o regimento do Departamento Nacional de Profilaxia e Controle de Doenças vinculado à Secretaria de Saúde Pública (*Portaria MS N.º 218/70*) do Ministério da Saúde, seção também criada pelo Decreto N.º 66.623, e à qual seria agregada a Divisão Nacional de Lepra; e

— a *Portaria N.º 225 do Ministério da Saúde* (03/08/70) aprovou o regimento da Divisão Nacional de Lepra.

O segundo período em estudo começa em 17 de julho de 1975 com a emissão da *Lei N.º 6.229*, que organizou e disciplinou o funcionamento do Sistema Nacional de Saúde. Essa lei ficou conhecida nos

meios sanitários por ter definido o campo de atuação de cada Ministério que atuava nas áreas da promoção, proteção e recuperação da saúde, e que por isso mesmo fora incorporado ao Sistema Nacional de Saúde. Em particular, foi muito comentada e discutida a distinção entre as esferas de competência dos Ministérios da Saúde e da Previdência e Assistência Social. Enquanto ao primeiro atribuía-se a formulação da política nacional de saúde, e a promoção e execução de ações preferencialmente voltadas para as medidas e os atendimentos de interesse coletivo; para o segundo era previsto uma atuação voltada principalmente ao atendimento médico-assistencial individualizado.

Em função dessa nova diretriz, a coordenação das ações relacionadas com o controle das doenças transmissíveis fora explicitamente delegada ao Ministério da Saúde. Nesse âmbito, a *Lei N.º 6.259*, de 30 de outubro de 1975, e o *Decreto N.º 78.231*, de 12 de agosto de 1976, que a regulamentou, estabeleceram normas relativas à notificação compulsória de doenças; instituíram o Programa Nacional de Imunizações e o Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica; e ajudaram a demonstrar a nova orientação impressa às ações profiláticas de iniciativa oficial.

Ao expor a organização formal das medidas de prevenção das doenças transmissíveis de modo independente da assistência médica a ser prestada às pessoas acometidas por essas moléstias, os documentos legais focalizados contemplavam a tradicional distinção acadêmica, já incorporada à prática dos profissionais de saúde, entre as disciplinas de Medicina Social e Preventiva e aquelas relativas à Clínica Médica. Esse fato, contudo, subtraiu à rede de Saúde Pública o mais potente fator de legitimação de sua intervenção social. A afirmação do estatuto de autonomia da medicina assistencial ante sua vertente profilática favoreceu a intensificação de uma já acentuada preeminência da primeira sobre a segunda, e relegou a medicina preventiva à procura dos meios que justificassem à coletividade a sua preservação. Em conseqüência, a nova orientação das medidas profiláticas pautou-se, desde sua proposição, pelas intenções de amenizar a incisividade e o rigor do controle que precisavam exercer; detalhar e especificar ao máximo seus conteúdos, enfatizando seu caráter apenas técnico; e atenuar o ônus político de uma intervenção social de retorno escasso e reconhecimento duvidoso. A dicotomia histórica, administrativa e financeira entre os serviços de Saúde Pública e os de medicina curativa também impôs às autoridades sanitárias que revestissem suas ações de controle com o emblema da prestação de serviços à coletividade, tendo sido este recurso empregado para amplificar a pequena repercussão dos esforços voltados à satisfação de necessidades apenas reconhecidas a partir de um ponto-de-vista virtual e teórico.

E estes foram os parâmetros que instruíram a instituição do Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica, sob a coordenação do Ministério da Saúde. O decreto N.º 78.231 definiu-lhe uma estrutura hierárquica cuja ação deveria estender-se por toda a nação, visando à coleta de informações básicas necessárias ao controle de doenças; ao diagnóstico daquelas incluídas no regime de notificação compulsória; à averiguação da disseminação da doença notificada; à determinação da população sob risco; à proposição e execução das medidas de controle pertinentes e à adoção de mecanismos de comunicação e coordenação do Sistema. Quanto à notificação compulsória de doenças, embora resguardada como dever de cada cidadão, o artigo 22.º conferia essa obrigação, em particular, aos médicos no exercício de suas funções; aos agentes dos então instituídos Postos de Notificação; aos dirigentes dos estabelecimentos componentes do Sistema Nacional de Saúde que proporcionassem serviços de saúde em regime ambulatorial ou de internação, ou que efetuassem exames complementares para diagnóstico e tratamento; e aos dirigentes de estabelecimentos de ensino em geral, públicos ou privados. Além disso, o caráter sigiloso da notificação, de facultativo, tornava-se obrigatório pelo artigo 23.º; e a identificação do paciente fora do âmbito médico-sanitário apenas seria permitida em casos de graves riscos à comunidade, a juízo das autoridades sanitárias, e com o conhecimento prévio do enfermo ou de seu responsável. Em seu último tópico, o Decreto N.º 78.231 instituiu e organizou o Programa Nacional de Imunizações, com o intuito de definir, promover e supervisionar as vacinações em todo o país, inclusive as de caráter obrigatório. A nova ideologia dos serviços de Saúde Pública também determinou imposições formais à apresentação deste Programa, cujo campo de atuação já era naturalmente propício à ocultação do controle de sua incumbência e sua manifestação enquanto direitos assegurados a todos os cidadãos. Assim, as imunizações que ele deveria aplicar, bem como os atestados de vacinação obrigatória, eram antecipados como gratuitos, e era postergada por dois anos a exigência de sua apresentação, independente do fim a que se destinasse, inclusive o pagamento de salário-família por dependentes de segurados dos diferentes sistemas de previdência social.

Nesse ínterim, foi emitida uma bateria de instruções normativas relativas ao controle da lepra e à rede institucional que dela se encarregara. Esses documentos legais, cujos conteúdos são destacados a seguir, cumpriram o papel de modernizar a atenção oficial dirigida a essa moléstia, imprimindo-lhe os novos rumos já detectados das medidas e ações de profilaxia das doenças infecto-contagiosas.

A primeira providência nessa área foi registrada pelo *Decreto N.º 76.078*, de 4 de agosto de 1975,

que alterou a denominação de Órgãos do Ministério da Saúde, e mandou corrigir o *Decreto N.º 74.891*, de 13 de novembro de 1974, que estabeleceu a estrutura básica deste Ministério. Sem explicitar as razões que justificassem essa iniciativa, o *Decreto N.º 76.078* determinou que a Divisão Nacional de Lepra e a Campanha Nacional contra a Lepra passariam a se chamar, respectivamente, Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária e Campanha Nacional contra a Hanseníase. Interligado a esse decreto, seguiu-se o de *N.º 77.513*, de 29 de abril de 1976, que atribuiu poderes ao Ministro de Estado da Saúde para expedir as normas técnicas a serem observadas no controle da hanseníase; e revogou o *Decreto N.º 968/62*, que firmara as normas técnicas especiais de combate à lepra no país.

Quinze dias depois, a 14 de maio de 1976, era expedida a *Portaria BSB N.º 165 do Ministério da Saúde*, que estabelecia a política de controle da hanseníase. Eram quatro seus objetivos gerais: “reduzir a morbidade, prevenir as incapacidades, preservar a unidade familiar e estimular a integração social dos doentes, conforme as características de cada caso”^{2,3}. As medidas visando à redução de morbidade centravam-se na promoção de educação sanitária que estimulasse a apresentação voluntária de doentes e sua assiduidade à terapêutica. Previa-se a formação de agentes de saúde capacitados ao reconhecimento de casos suspeitos e à execução de tarefas de prevenção das incapacidades, além da busca ativa de casos, e participação em eventuais exames da coletividade. Como contraparte dos serviços de saúde, esperava-se que o Sistema Nacional de Saúde pudesse depender uma atenção médica de qualidade, cordial e eficiente, e realmente individualizada. Para isso, o Ministério da Saúde obrigava-se a organizar cursos de atualização em hanseníase para profissionais de saúde, e estipulava uma série de requisitos a ser observada pelos médicos que quisessem credenciar suas clínicas particulares junto à Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária, para o recebimento de medicação específica ao tratamento de doentes com hanseníase. Com relação à prevenção de incapacidades, a Portaria indicava sua adoção em todos os serviços gerais de saúde, e obrigava sua instituição nos hospitais e serviços especializados. A terceira meta da política de controle da hanseníase, a preservação da unidade familiar, era firmada como objetivo permanente da atenção à hanseníase, e era abolida a prática de afastar os filhos de seus pais enfermos, com exceção às crianças nascidas em hospitais especializados no atendimento aos hansenianos. Os serviços de saúde deveriam incumbir-se da instrução e do fornecimento de recursos para o planejamento familiar às doentes que necessitassem de medicamentos de efeitos teratogênicos; além de estimular o comparecimento de todo o grupo familiar às consultas de revisão, afastando o receio do isolamento compulsório.

Visando à reintegração social do doente, o termo “lepra” e seus derivados foram proscritos da linguagem utilizada nos documentos oficiais do Ministério da Saúde, presumivelmente pelo acentuado estigma social a ele associado. A readaptação profissional, a prevenção de incapacidades e a reabilitação corretiva eram equiparados, do ponto-de-vista do esforço a ser despendido, à busca sistemática de casos e às medidas profiláticas tradicionais; e a Portaria determinava que todas as ações do Ministério da Saúde com Órgãos e entidades que com ele desejassem manter convênios, fossem norteadas pelo “respeito à dignidade da pessoa humana, preservação da unidade familiar e pelo empenho em desenvolver as potencialidades do doente ou ex-doente, procurando torná-lo economicamente capaz e auto-suficiente”^{2,3}. Para finalizar, a política de controle da hanseníase estimularia a realização de estudos multidisciplinares visando à análise das barreiras culturais que dificultam a integração do doente na sociedade, e à adoção de instrumentos adequados para a progressiva redução das barreiras segregacionistas.

A política de controle da hanseníase ilustra, em primeiro lugar, a necessidade da elaboração de programas que, a nível do Sistema Nacional de Saúde, conjugassem profilaxia e assistência, e em segundo, a crescente complexidade técnica e especificidade que se imprimiam à atuação dos Órgãos do Ministério da Saúde. Em função desses fatores, o *Decreto N.º 79.056*, de 30 de dezembro de 1976, reformulou a estrutura organizacional do Ministério da Saúde, e extinguiu sua Secretaria Nacional de Saúde, desdobrando-a em três outras seções para as quais foram consignados seu acervo, seu pessoal e sua dotação orçamentária: a Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, a de Ações Básicas de Saúde e a de Programas Especiais de Saúde. À última, em particular, competia elaborar, executar e avaliar programas de abrangência nacional em vários campos da saúde, dentre eles a Dermatologia Sanitária. As disposições desse decreto veio se somar a *Portaria Interministerial N.º 1*, de 26 de junho de 1978, dos Ministérios da Saúde e da Previdência e Assistência Social, que estabelecia diretrizes para o funcionamento dos serviços básicos de saúde, inaugurava a atuação conjunta dos dois Ministérios, e previa que a execução da Lei N.º 6.229/75 não resultaria de apenas um documento regulamentar. Desse modo, encomendou-se a emissão de textos sucessivos que apoiariam a progressiva consolidação das metas do Sistema Nacional de Saúde.

Dentre os textos previstos, a *Portaria Interministerial N.º 3*, emitida em 27 de outubro de 1978 pelos mesmos Ministérios, estabeleceu diretrizes de atuação conjunta no controle da hanseníase, a encargo da Secretaria Nacional de Programas Especiais de Saúde, através de sua Divisão Nacional de

Dermatologia Sanitária, e da Secretaria de Serviços Médicos, por intermédio do Instituto Nacional de Assistência Médica da Previdência Social. O Programa Integrado de Controle da Hanseníase baseava-se em medidas de prevenção primária, secundária e terciária, além de assistência farmacêutica e assistência social. A prevenção primária compreendia a educação em saúde dirigida às equipes de saúde, aos doentes e contactos, e ao público em geral, além da aplicação da vacina BCG, que apresenta certa eficácia na hanseníase. A prevenção secundária implicava na vigilância dos contactos, que deveriam ser submetidos a exames dermatológicos anuais, e no tratamento ambulatorial de doentes, independente da forma clínica da doença, além de internação, de preferência em hospitais gerais, nos casos de intercorrências médico-cirúrgicas. A prevenção terciária incluía ações simples de prevenção e tratamento das incapacidades físicas, e ações de diferentes graus de complexidade, envolvendo recursos médico-hospitalares e de fisioterapia. Os medicamentos utilizados no tratamento de hansenianos seriam fornecidos pela Central de Medicamentos — CEME/MPAS, e as substâncias para provas semióticas pela Divisão Nacional de Dermatologia Sanitária — DNDS/MS. Quanto à assistência social a ser provida pela rede de saúde, além de suas tradicionais metas de readaptação profissional e reintegração social dos enfermos, era seu objetivo compatibilizar a legislação previdenciária pertinente com as normas desta Portaria, regulamentando a concessão aos enfermos dos benefícios “auxílio-doença” na vigência da incapacitação ou risco à coletividade, e “aposentadoria” apenas em casos de incapacitação física irrecuperável, sempre a juízo da perícia médica.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O estudo retrospectivo da legislação federal que incide sobre a atenção às moléstias transmissíveis em geral, e à hanseníase em particular, nos auxilia a captar o sentido da intervenção estatal no setor saúde, e sua evolução durante os períodos focalizados.

Num primeiro momento, a ação da rede de Saúde Pública foi instruída pelo paradigma da “guerra” às infecções e seus agentes etiológicos. De imediato, este paradigma pôde ser evidenciado através da utilização de uma terminologia que evocava com freqüência as metáforas do “combate” às doenças transmissíveis, das “armas” a serem empregadas “contra” elas; da “estratégia” dos serviços públicos que visavam à “defesa” e “proteção” da saúde; dos “focos” de infecção; etc. No que tange ao conteúdo dos documentos legais examinados, as ações preconizadas também se pautaram pelo caráter incisivo e agudo com que se imprimiam à cole-

tividade. As medidas profiláticas convencionais, então encomendadas, puderam determinar bruscos rearranjos à organização da vida urbana — em particular à rotina das pessoas infectadas ou em contacto com elas — graças ao respaldo da prestação conjugada de serviços assistenciais e terapêuticos. O paradigma da guerra previa ainda o tipo de obediência requerido aos ditames da profilaxia das infecções: a disciplina e a subordinação incontestes, e em seu reforço estipulava até mesmo o recurso à autoridade policial competente.

No segundo momento em análise, o modelo militar é substituído por outro mais afim às atividades civis, e ao invés de combate fala-se em “controle” das infecções; as estratégias da rede de saúde cedem lugar a suas “políticas” e “programas”; em vez de armas, busca-se “instrumentos” a serem empregados na “atenção” às moléstias transmissíveis. A divisão de competências entre os Órgãos componentes do Sistema Nacional de Saúde refletiu e intensificou a diminuição da aceitação social e do prestígio associado às ações profiláticas e de controle dessas doenças. Esse fator implicou, primeiro, em novas orientações ao funcionamento das entidades do Ministério da Saúde encarregadas dessas tarefas; e, segundo, numa reestruturação administrativa deste Ministério, visando a possibilitar a implantação de programações integradas com as agências do Ministério da Previdência e Assistência Social, mesmo porque, do ponto-de-vista orçamentário, a distinção entre as medidas profiláticas e os serviços de assistência médica também prejudicou o Ministério da Saúde. Os documentos legais analisados, neste período, atenuaram o rigor com que a rede de Saúde Pública lograva intervir socialmente, em prol de uma atitude mais diplomática, que cativasse os cidadãos para o controle cujo exercício lhe era postulado.

O primeiro paradigma fora explicitamente inspirado no advento da Microbiologia. Essa teoria pôde contemplar as moléstias infecto-contagiosas com hipóteses e axiomas que justificaram seu caráter transmissível, repercutindo até hoje tanto na escola médica como na elaboração da legislação sanitária. Uma boa e recente ilustração dessa concepção é fornecida pelo Código Sanitário do Estado de São Paulo, aprovado pelo *Decreto Estadual N.º 12.342*, de 27 de setembro de 1978, cujo artigo 491.º classificava como transmissível toda e qualquer doença “causada por um agente etiológico animado ou por seus produtos tóxicos, capaz de ser transferida, de modo direto ou indireto, de uma pessoa ou animal, de vegetais ou do solo, para o organismo de outro indivíduo ou animal”⁴. Ao investir uma entidade biológica animada do poder de *causar* a enfermidade, essa concepção identificou o “inimigo” contra o qual se justificava acionar as medidas de “guerra”. Como vimos, esse combate não se restringiu às

“trincheiras” da atenção médica individualizada, onde médico e micróbios disputam palmo a palmo as células e os tecidos, e implicou em uma série de medidas de âmbito coletivo que se impunham vigorosamente ante os interesses particulares. Ao assumir a direção desse combate, o Estado pretendeu, através das autoridades sanitárias, ressaltar seu caráter benfazejo, revestindo-se a um só tempo dos papéis de intérprete dos interesses de cunho coletivo, de aliado natural do bem comum, e de sua primeira linha de defesa, a qual, uma vez rompida, exporia os cidadãos a toda sorte de infortúnios.

A falência desse modelo deveu-se a motivos de diferentes ordens. Em primeira instância, citemos aqueles relativos às já mencionadas derivações da reorganização dos serviços de saúde. A crescente sofisticação técnica dos procedimentos profissionais de saúde não permitiu preservar a terapêutica das moléstias transmissíveis como fator coadjuvante de sua profilaxia. Envolvendo recursos próprios muito mais vultuosos, e um maior respaldo social, o campo institucional da medicina assistencial foi melhor aquinhoado com a divisão interna do Sistema Nacional de Saúde em tarefas e competências. Os Órgãos e entidades oficiais voltados à saúde coletiva, por sua vez, viram-se prejudicados em seus principais insumos operacionais — orçamento e aceitação social —, e foram obrigados a mudar a orientação de suas atividades. Conjugado a esses fatores, uma forte injunção social fêz-se notar a partir de meados da década passada: os movimentos de conscientização em prol dos direitos humanos e da extensão das liberdades civis repercutiram com bastante intensidade em todas as áreas da vida urbana, e pode-se mesmo suspeitar que tenham contribuído para a perda de eficácia das práticas de saúde mais coercivas.

A readequação das políticas de saúde pretendeu estabelecer as bases que legitimassem ante a nova conjuntura a ação sanitária do Estado. Seu caráter benigno deixara de ser tomado como dado preliminar a quaisquer iniciativas governamentais no setor saúde. Como parâmetro diretor da intervenção estatal nessa área, propugnava-se agora objetivar, a cada instante, a noção de “Estado benfeitor”, através da apresentação e consecução paulatina de metas supostamente identificadas ao bem comum. A não realização dos objetivos explicitamente propostos — o que parece ocorrer com notável frequência no Brasil — é debitada a deficiências ou disfunções na atuação do Estado, que deveriam ser corri-

gidas mediante um esforço coletivo. A conquista dos interesses particulares deixava de ser presumida como imediata e incondicional, e passava a ser cultivada pela educação sanitária, pelo abrandamento de algumas medidas de controle, pelo ocultamento de outras sob justificativas de cunho técnico, por melhorias nas condições gerais da realização de quarentenas, pelo acesso aos benefícios previdenciários e assistenciais, etc.

A atenção da rede de Saúde Pública à hanseníase evoluiu, durante os períodos analisados, de acordo com a mesma diretriz. Como vimos, praticamente todas as medidas que implicavam em restrições aos direitos de cidadania dos hansenianos e seus comunicantes foram reapresentadas pela nova legislação em versões cujos conteúdos enfatizavam mais suas intenções que suas conseqüências materiais. Assim, por exemplo, à necessidade social de normatizar a conduta dos pacientes com hanseníase, chamou-se “prevenção de incapacidades” e “redução da morbidade”; e a imposição de meios anti-concepcionais às doentes com hanseníase, bem como o recolhimento compulsório das crianças nascidas em hospitais especializados no tratamento de hansenianos, foram instituídos como as exceções que confirmam a regra da “preservação da unidade familiar”, apregoada como objetivo permanente da atenção à hanseníase. Nesse contexto, a alteração da nomenclatura oficial relativa a essa enfermidade também deve ser citada como detentora de dois sentidos: um explícito em termos ideais e de difícil contabilização de resultados — reduzir o estigma social associado à doença; e outro, não formulado, porém melhor capitalizado pela rede de Saúde Pública — cooptar apoios e legitimar sua intervenção social.

O estudo dos parâmetros norteadores da atenção pública às moléstias transmissíveis em geral, e à hanseníase em particular, nos indica caracteres distintivos da atuação estatal. Em ambos os períodos delimitados para a análise, os paradigmas registrados configuravam programas de ação social voltados para a saúde que visavam prioritária, mas não explicitamente, a um objetivo alheio à área sanitária, e não diretamente vinculado ao bem-estar social: o aumento de poder do próprio Estado brasileiro, através da implementação e estímulo de suas agências especializadas. E este fora, e continua sendo, o limite às reais preocupações pela melhoria de vida da população, sob o qual, mesmo assim, alguns resultados concretos foram alcançados.

RIALA6/640

ANTUNES, J.L.F.; COSTA, O.V.; AUGUSTO, M.H.O. — Hanseniasis: leprosy, under law's sight. — *Rev. Inst. Adolfo Lutz* — Vol. 48(1/2):29-36, 1988.

ABSTRACT: This analysis aim is to show and to discuss public policies applied to control and fight against transmissible diseases in general, and particularly against hanseniasis, and their evolution during the last years, in Brazil. We have collected and resumed a great number of legal papers from Health Federal Legislation subscribed by National Congress or dispatched by official institutions attached to Public Health. The study of prophylactic and assistential actions provided by brazilian's government has shown their reorientation in the last ten years. Expressed meaningfully by the change of official nomenclature about hanseniasis/leprosy, the new attitude of Public Health services is criticized in its purpose to institute and establish in society the notion of "beneficial State".

DESCRIPTORS: leprosy, brazilian health federal legislation; communicable diseases, care, prevention; hanseniasis; infectious diseases.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARBOZA, J.P. & REZENDE, C.B. — *Os Serviços de Saúde Pública no Brasil, especialmente na Cidade do Rio de Janeiro de 1808 a 1907*. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, 1909. 2v.
2. BRASIL. Ministério da Saúde — *Legislação federal do setor Saúde*. 2ª ed. Brasília, DF, Consultoria Jurídica, 1977. 3v.
3. LEX: *Coletânea de Legislação e Jurisprudência*. — São Paulo, Editora LEX, S/A, 1954 a 1979.
4. SÃO PAULO. Leis e Decretos. — *Decreto nº 12.342 de 27/09/78. Regulamento da Promoção, Preservação e Recuperação da Saúde no Campo de Competência da Secretaria de Estado da Saúde*. São Paulo, I.O.E., 1980.

Recebido para publicação em 15 de abril de 1988.

SUJIDADES E FRAUDES EM CHOCOLATES*

Claydes de Quadros ZAMBONI**
Helena Ide ALVES**
Regina Maria M.S. RODRIGUES**
Nazareth SPITERI**
Márcia Bittar ATUI**
Mônica Arcón BATISTIC**

RIALA6/641

ZAMBONI, C.Q.; ALVES, H.I.; RODRIGUES, R.M.M.S.; SPITERI, N.; ATUI, M.B.;
BATISTIC, M.A. — Sujidades e fraudes em chocolates. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*,
48(1/2):37-41, 1988.

RESUMO: Foram analisadas 140 amostras de produtos de cacau, sendo 67 de chocolate em pó e 73 de chocolate em tablete com a finalidade de verificar as condições higiênicas desses produtos, propor limites de tolerância para sujidades leves e pesquisar fraudes. O método utilizado para pesquisa de sujidades leves foi descrito no AOAC 14ª edição com modificações e, para a pesquisa de fraudes, o método foi desenvolvido na Seção de Microscopia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz, baseado em Wallis⁹. Concluiu-se que 92,14% do total das amostras continham de 0 a 10 fragmentos de insetos; 2,14% continham pêlos de roedor e 2,50% estavam parasitadas por ácaros. Sugeriu-se modificações na legislação atual, propondo-se um limite de tolerância de até 10 fragmentos de insetos a cada 50g de chocolate em pó ou 100g de chocolate em tabletes. Sugeriu-se também, que seja mantida a exigência que proíbe a presença de ácaros e de pêlos de roedor nesses produtos. Quanto a fraudes, verificou-se que 10,07% das amostras estavam fraudadas com amido de milho e que 8,57% continham soja, em desacordo com a formulação. Propôs-se que seja revogado o parecer aprovado pela Câmara Técnica de Alimentos em 14/12/79 que considera lícito o uso de farinha de soja integral pré-cozida nos produtos de cacau, chocolates, bombons e similares.

DESCRITORES: chocolate, adulteração; chocolate, material estranho em, detecção microscópica.

INTRODUÇÃO

O problema de higiene existente na indústria de alimentos torna necessário um controle sistemático tanto da matéria-prima como do produto final, que podem sofrer contaminação por pragas durante o transporte, armazenamento ou processamento. Dessa forma, para se evitar ou prevenir a contaminação por insetos, roedores, ácaros ou outras pragas indesejáveis, que podem ser vetores de doenças, as práticas de higiene deverão estar relacionadas com as práticas de controle de qualidade.

A idoneidade do fabricante aliada ao controle dos órgãos oficiais permitirão que se chegue a um produto de melhor qualidade, o que virá de encontro ao interesse dos consumidores e da Saúde Pública.

O cacau e o chocolate costumam ser atacados por diversas pragas que se desenvolvem em climas quentes e são comuns em fábricas e armazéns, como traças e besouros. Além disso, esses produtos também são atacados por pragas oportunistas, como ratos, camundongos, baratas e formigas.

* Realizado na seção de Microscopia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP. Apresentado no 1º Congresso Brasileiro de Produtos Farmacêuticos, Cosméticos e Afins e no 6º Congresso Paulista de Farmacêuticos, São Paulo, SP, 1987.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

São os seguintes os insetos que podem atacar o cacau e o chocolate: *Ephestia cautella* e *E. elutella*, ordem Lepidoptera; *Orizaephilus surinamensis*, *Tribolium castaneum*, *T. confusum*, *Lasioderma serricorne*, ordem Coleoptera, que são pragas de produtos armazenados.⁷

As maiores fontes de infestação por insetos são as sementes de cacau, sendo a traça *Ephestia cautella* a praga mais importante. As sementes são mantidas em silos por algum tempo, e podem ser atacadas por insetos; para transporte, são acondicionadas em sacos, podendo haver eclosão dos ovos que vão dar origem a larvas, resultando no desenvolvimento e multiplicação desses insetos.⁷

Durante a manufatura, os insetos ou seus fragmentos são incorporados ao produto, sendo encontrados nas análises de pesquisa de sujidades.

O laboratório é muitas vezes solicitado para verificar as condições higiênicas da matéria-prima e dos produtos de cacau. Julgamos portanto necessário implantar métodos para pesquisa de sujidades nesse tipo de alimento; e dispusemo-nos a verificar também as condições higiênicas dos produtos de cacau vendidos à população, a fim de propor limites de tolerância para futuros padrões microscópicos.

Em pesquisa já publicada¹², constatamos a presença de cascas de semente de cacau em chocolate em pó, o que também é considerado fraude, e efetuamos sua quantificação. No presente trabalho, concomitante à pesquisa de sujidades, procuramos detectar outros tipos de fraudes nos produtos de cacau, através de análise microscópica.

O objetivo deste trabalho é, portanto, a pesquisa de material estranho e fraudes em produtos de cacau, especificamente chocolate em pó e chocolates em tablete.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 140 amostras de produtos de cacau, sendo 67 de chocolate em pó e 73 de chocolates em tablete de dois tipos: chocolate ao leite e chocolate amargo. Parte das amostras foram colhidas pelo Centro de Vigilância Sanitária — CVS da Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo, e as demais foram adquiridas em diversos supermercados e mercearias da cidade de São Paulo. Em ambos os casos, as amostras dos produtos analisados foram obtidas nos locais onde a população os adquire para o consumo.

Método para pesquisa de sujidades

Para a pesquisa de sujidades nos produtos de cacau, foi utilizado no método descrito no Official

Methods of the Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C.) para sujidades leves¹, com as seguintes modificações: como detergente, utilizou-se a solução de lauril sulfato de sódio a 2%; a extração das sujidades leves foi feita substituindo o líquido extrator por querosene (varsol); a filtração foi feita em funil de Buchner; e para clareamento utilizou-se água sanitária.

Método para identificação de fraudes

Para a pesquisa de fraudes nos produtos de cacau foi desenvolvido um método baseado nos princípios descritos por Wallis⁹, cujo procedimento está descrito abaixo.

Homogeneizar ou triturar a amostra em um graal. Pesar cerca de 20g de amostra em um béquer de 500ml. Desidratar e desengordurar com mistura de álcool-éter 1:1 (v/v). Filtrar à vácuo sobre papel de filtro. Montar lâminas com água glicerinada a 2% e pesquisar amidos estranhos ao cacau. Transferir parte do material seco e desengordurado do papel de filtro para um béquer de 500ml; adicionar 100ml de água filtrada e 200ml de solução de hidróxido de sódio a 5%. Aquecer até a ebulição, agitando ocasionalmente. Filtrar à vácuo em papel de filtro. Transferir o papel de filtro para uma placa de Petri, montar lâminas com o resíduo que ficou no papel de filtro, utilizando tanto água glicerinada a 2% como a solução de Lugol, e pesquisar a presença de soja e de outros elementos histológicos de vegetais estranhos ao cacau, além de cascas da semente de cacau.^{4,5,6,9,10,11,12}

RESULTADOS

Os resultados obtidos estão relacionados nas tabelas 1 e 2.

Na tabela 1 estão os resultados obtidos na pesquisa de fragmentos de insetos, pêlos de roedor e ácaros (sujidades) em produtos de cacau (chocolate em pó e chocolates em tablete).

Na tabela 2 estão os resultados obtidos na pesquisa de fraudes em chocolate em pó e chocolates em tablete.

DISCUSSÃO

Na confecção do chocolate em pó, além da massa de cacau, o açúcar entra como ingrediente. Nos chocolates em tablete entram também leite em pó, manteiga de cacau e lecitina como ingredientes principais. Dentre esses ingredientes, o açúcar e o leite em pó podem concorrer para aumentar o número de fragmentos de insetos, de pêlos de roedor ou de ácaros nos produtos.

TABELA 1

Sujidades em chocolates

Sujidades \ Produtos de cacau		Chocolate em pó		Chocolates em tablete	
		nº	%	nº	%
Fragmentos de insetos	0	30	44,8	38	52,1
	1 a 5	24	35,8	23	31,5
	6 a 10	4	5,9	10	13,7
	+ de 10	9	13,5	2	2,7
Total		67	—	73	—
Pelos de roedor	0	66	98,5	71	97,3
	1 a 2	1	1,5	2	2,7
Total		67	—	73	—
Ácaros	0	65	97	71	97,3
	1 a 2	2	3	2	2,7
Total		67	—	73	—

TABELA 2

Fraudes em chocolates

Fraudes \ Produtos de cacau		Chocolate em pó		Chocolates em tablete			
		amostras analisadas nº	amostras positivas		amostras analisadas nº	amostras positivas	
			nº	%		nº	%
Amido de milho		67	5	7,5	73	8	11,0
Soja		67	2	3,0	73	10	13,7

A nossa legislação exige ausência de sujidades em cacau e chocolate^{2,8}, o que a indústria do setor considera como padrão irreal e impossível de ser obedecido.

A legislação dos Estados Unidos da América, The Food Defect Action Levels da Food and Drug Administration — FDA⁵, tolera, para chocolate, até 60 fragmentos de insetos por 100g do produto, quando se calcula a média dos resultados de 6 amostras analisadas; entretanto, nenhuma das 6 amostras poderá conter mais que 90 fragmentos por

100g. Quanto a pêlos de roedor, o produto é rejeitado se a média em 6 amostras exceder a 1 pelo por 100g, ou se qualquer uma das 6 amostras contiver mais que 3 pêlos de roedor. Para cacau em pó e massa de cacau a tolerância é de 75 fragmentos de insetos por 50g do produto na média de 6 amostras examinadas, ou o produto é rejeitado se qualquer uma das 6 amostras contiver mais que 125 fragmentos de insetos em 50g. A tolerância para pêlos de roedor é de até 2 pêlos na média de 6 amostras de 50g analisadas, ou rejeita-se o produto quando em qualquer uma das 6 amostras for encontrado mais que 4 pêlos de roedor.

A Food and Drug Administration — FDA enfatiza que o fato de haverem sido estabelecidos aqueles padrões não faz supor que a indústria tenha de produzir alimentos contendo sujidades até o limite estabelecido. Se a indústria operar adequadamente, os níveis poderão estar muito abaixo desse limite. Os padrões representam o limite do defeito tolerado, a partir do qual o Órgão de fiscalização pode exercer ação legal sobre o produto, removendo-o do mercado. Esses padrões são constantemente modificados, e os níveis são diminuídos à medida em que o progresso da tecnologia possibilite tal redução. O fato de obedecer aos limites de tolerância em um determinado produto não isenta a indústria produtora de sofrer sanções da FDA, quando ela não obedecer às normas sanitárias, e operar em condições de higiene insatisfatórias, em desacordo com a lei.⁵

Levando em conta os resultados obtidos pela análise de 67 amostras de chocolate em pó e de 73 amostras de chocolates em tablete (tabela 1), e comparando-os com os padrões propostos pelo F.D.A., verificamos que a contaminação com fragmentos de insetos, ácaros e pêlos de roedor nos produtos de cacau apresentam níveis inferiores aos propostos por aquele Órgão fiscalizador. Consideramos que os padrões americanos são elevados para produtos de cacau. Essa tolerância pode ser atribuída ao fato de a matéria-prima ser importada de vários países, estando, portanto, sujeita à contaminação durante o transporte e o armazenamento, o que não ocorre no nosso país que é produtor.

Quanto a fraudes, a mais comum é a adição de amido de milho, sendo que, das 140 amostras analisadas, 9,21% continham amido (tabela 2).

Com relação à adição de soja, conseguimos já há algum tempo acusar o emprego da farinha de soja em chocolates, sem que houvesse qualquer indicação dessa prática na rotulagem ou na formulação desses produtos.

Foram condenados vários produtos até ser autorizado o uso de farinha de soja integral pré-cozida nos produtos de cacau, chocolate, bombons e similares, desde que o nível máximo de adição ao chocolate seja de 5%.*

A partir da comunicação desse parecer técnico foi permitida a utilização da farinha pré-cozida de soja em produtos de cacau, desde que constem na formulação e na rotulagem do produto**.

Entretanto, de acordo com a tabela 2, das 140 amostras de chocolate analisadas, 8,57% continham soja, em desacordo com a formulação.

Tanto a adição de soja como de amidos estranhos devem ser consideradas fraudes, porque, embora a legislação atual permita a adição de soja, desde que seja declarada na formulação e na rotulagem, consideramos que a substituição do cacau pela soja, que tem menor valor comercial, não é do conhecimento do consumidor, que desconhece a formulação e não atenta para a rotulagem.

CONCLUSÃO

À vista dos resultados obtidos, pudemos concluir que 48,57% das 140 amostras de chocolates não continham fragmentos de insetos; 33,57% apresentaram de 1 a 5 fragmentos de insetos e 10% de 6 a 10. Em outras palavras, 43,57% das amostras continham de 1 a 10 fragmentos de insetos. Em vista desses resultados, podemos sugerir que a legislação de alimentos, em seus futuros padrões microscópicos, tolere até 10 fragmentos de insetos em 50g de cacau em pó e em 100g de chocolate.

Quanto a pêlos de roedor e ácaros, propomos que se continue a exigir sua ausência, em função do risco potencial para a saúde, e dos males que essas sujidades podem acarretar quando ingeridas, uma vez que o produto é consumido como se apresenta, sem nenhum outro tipo de processamento.

Verificamos também que a adição de amido de milho continua a ser praticada, assim como a adição de soja, devendo ser contínua a inspeção nesses produtos.

Propomos ainda que seja revogado o Parecer Técnico da Divisão Nacional de Alimentos que permite a adição de farinha integral pré-cozida de soja em produtos de cacau, chocolates, bombons e similares.

* Pareceres Técnicos do Serviço Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Processo SNVS nº 9.482/79. Parecer aprovado pela Câmara Técnica de Alimentos (C.T.A.) em 14/12/79; Considerar lícito o uso da farinha de soja integral pré-cozida nos produtos de cacau, chocolate, bombons e similares.

** Comunicado da Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos (DINAL) nº 7/80 de 25 de março de 1980. Comunica a aprovação pela Câmara Técnica de Alimentos com referência ao Processo SNVS número 9.482/79.

ZAMBONI, C.Q.; ALVES, H.I.; RODRIGUES, R.M.M.S.; SPITERI, N.; ATUI, M.B.; BATISTIC, M.A. — Light filth and adulteration in chocolate. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):37-41, 1988.

ABSTRACT: Samples of chocolate and chocolate bars — 67 samples of chocolate powder (50g each) and 73 of chocolate bars (100g each), amounting to 140 samples of cocoa products — were analyzed for light filth by the Official Methods of Analysis of the AOAC 14th edition with modifications and for adulteration. It was concluded that 92,14% from the 140 cocoa product samples did not contain more than 10 insect fragments. Rodent hairs were detected in 2,14% from the 140 samples and mites were detected in 2,50%. It was suggested that the Brazilian legislation could tolerate until 10 insect fragments per 50g of cocoa powder or 10 insect fragments per 100g of chocolate and chocolate bars. It was suggested too that the legislation do not tolerate rodent hairs or mites in these products. The most encountered adulteration were the addition of maize starch to chocolate and soya flour to chocolate powder and chocolate bars. 10,07% of 140 samples were adulterated with maize starch and 8,5% of the samples were adulterated with soya flour.

DESCRIPTORS: chocolate, adulteration; chocolate, filth, microscopical detection in.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS — *Official Methods of Analysis*. 14th ed. Washington D.C., A.O.A.C., 1984, p.891.
2. BRASIL. Leis, Decretos, etc. Resolução Normativa n° 12/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. *Diário Oficial*, Brasília, 24 jul. 1978. Seção I, pt. 1, p. 11509. Aprova Normas Técnicas Especiais do Estado de São Paulo, relativas a alimentos (e bebidas)...
3. ESTADOS UNIDOS — *The Federal Register* — TITLE 21 — The Food Defect Action Levels — F.D.A. Washington D.C. 1982.
4. MENEZES JR., J.B.F. — Investigações sobre o exame microscópico de algumas substâncias alimentícias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 9:29-40, 1949.
5. MENEZES JR., J.B.F. — A estrutura microscópica de sementes oleaginosas comestíveis. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 18:5-44, 1958.
6. MENEZES JR., J.B.F. — Soja: origem, composição química, valor nutritivo e aplicações diversas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 21:33-40, 1961.
7. MINIFIE, B.W. — *Chocolate, cocoa and confectionery: science and technology*. London, Churchill, 1970. p.416-24.
8. SÃO PAULO. Leis, decretos, etc. — Decreto n° 12.486, de 20 de outubro de 1978. *Diário Oficial*, São Paulo, 21 out. 1978. p.21 (NTA 40). Aprova Normas Técnicas Especiais Relativas a Alimentos e Bebidas...
9. WALLIS, T.E. — *Microscopia Analítica: susfines y metodos en relación a los alimentos, agua, especias y medicamentos*. Trad. por Jaime Gallego Berenger. Zaragoza, Acribia, 1968. p.133-134; 166-168.
10. WINTON, A.L. & WINTON, K.B. — *The structure and composition of foods*. New York, John Wiley, 1939. V.1. p.22-45; 512-16.
11. WINTON, A.L. & WINTON, K.B. — *The structure and composition of foods*. New York, John Wiley, 1939. V.4. p.114-35.
12. ZAMBONI, C.Q.; ALVES, H.I.; SPITERI, N. — Cascas de sementes de cacau em chocolates em pó. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45(1/2):21-25, 1985.

Recebido para publicação em 3 de maio de 1988.

MENINGITES BACTERIANAS. I: INTERFERÊNCIA DE ANTIBACTERIANOS PRESENTES NO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO NO DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO

Carmo Elias Andrade MELLES*
Ilka Maria LANDGRAF*
Rita de Cássia Barradas BARATA**

RIALA6/642

MELLES, C.E.A.; LANDGRAF, I.M. & BARATA, R.C.B. — Meningites bacterianas. I: Interferência de antibacterianos presentes no líquido cefalorraquidiano no diagnóstico etiológico. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):43-47, 1988.

RESUMO: Foram analisadas 641 amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR) de pacientes com suspeita clínica de meningite bacteriana. Em 247 (38,53%) amostras foi detectada a presença de antibacterianos. Em 388 (60,53%) amostras foi possível a identificação do agente etiológico da infecção, através de exames bacteriológicos ou pela identificação de antígenos através da reação de imunoeletroforese cruzada (IEC). A presença de antibacterianos no LCR diminui significativamente a possibilidade de diagnóstico etiológico ($p < 0,05$). A concentração de quimioterápicos, avaliada pelo tamanho do halo de inibição, foi significativamente menor para as amostras em que foi possível chegar à identificação do agente etiológico da infecção ($p < 0,05$). Concluiu-se que a presença de antibacterianos no LCR pode prejudicar sobremaneira o diagnóstico etiológico das meningites bacterianas.

DESCRITORES: meningites bacterianas, diagnóstico laboratorial; meningites bacterianas, influência da antibioticoterapia prévia na elucidação etiológica.

INTRODUÇÃO

As meningites bacterianas constituem importante causa de morbidade e mortalidade em vários países, apesar dos avanços ocorridos durante este século no campo do diagnóstico e da terapêutica.

Diante da mais leve suspeita clínica, se impõe o diagnóstico laboratorial, na medida em que a letalidade das meningites bacterianas está diretamente relacionada com a precocidade da intervenção terapêutica. Do ponto-de-vista epidemiológico, o esclarecimento etiológico dessas infecções também é fundamental, pois cada um dos agentes apresenta características distintas quanto aos grupos mais afetados, variando de acordo com a idade, sexo, nível sócio-econômico, além de apresentar diferentes distribuições temporais.

NEAL^{22,23}, referindo-se ao estudo de meningites no período de 1911 a 1921, não mencionou nenhum caso sem diagnóstico etiológico; entretanto, no período seguinte (1921-1935), já apareceram em seus resultados casos sem esclarecimento.

WILSON & LERNER²⁵, revisando casos de meningites purulentas ocorridos nos anos de 1942 e 1943, os quais haviam sido tratados com sulfonamidas, encontraram 8% sem identificação do agente etiológico.

Os mesmos autores, avaliando casos ocorridos em 1962 e 1963, os quais receberam penicilina isoladamente ou em combinação com cloranfenicol e sulfonamida, encontraram 26% de casos sem diagnóstico etiológico. Os autores consideraram que a antibioticoterapia anterior ao diagnóstico laborato-

* Do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, SP.

rial seria a causa provável desses achados. Esta opinião é compartilhada por FINLAND et alii⁷, que responsabilizam a introdução e o uso indiscriminado de antibióticos pela profunda alteração no caráter das infecções.

HEYCOCK¹⁴ afirma que, nas meningites bacterianas, uma pequena dose de sulfonamidas pode alterar consideravelmente o quadro clínico da doença. Esse fato também foi observado por SALLES GOMES¹⁰ na epidemia de meningite meningocócica ocorrida em São Paulo, entre 1945 e 1951.

Na bibliografia consultada, cita-se grande número de casos suspeitos de meningite bacteriana que permanecem sem comprovação diagnóstica, por motivos relacionados ao tratamento prévio^{3,4,5,8,9,11,15}.

LIMA¹⁸ relatou em 1932 cerca de 40,4% de casos de meningites bacterianas nos quais os agentes etiológicos não foram identificados. Outros autores^{1,2,26}, posteriormente, relataram percentuais semelhantes ou ainda maiores.

MELLES et alii¹⁹, na vigência da epidemia de meningite meningocócica da década passada, em São Paulo, encontraram 20,34% de casos com etiologia indeterminada.

Dada a importância clínica e epidemiológica do diagnóstico etiológico das meningites bacterianas, procuramos avaliar a influência de antibacterianos presentes no LCR sobre a identificação dos agentes envolvidos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados, em um período de dois anos, 1340 amostras de LCR de pacientes com suspeita

clínica de meningites purulentas, provenientes do Hospital Emilio Ribas, São Paulo.

Desse total, foram selecionadas 641 (47,8%) amostras que apresentaram evidências de meningites bacterianas. Os critérios utilizados nessa seleção foram a presença de um agente etiológico bacteriano ou achados quimiocitológicos considerados compatíveis (500 ou mais células por mm³, predomínio de polimorfonucleares, proteinorraquia aumentada, glicorraquia diminuída).

Os métodos empregados para o transporte do LCR na caracterização dos diferentes agentes etiológicos foram aqueles recomendados pelo Centro de Referência Nacional para Meningites: Instituto Adolfo Lutz-IAL/Ministério da Saúde-MS²¹. A pesquisa de antibacterianos no LCR foi efetuada de acordo com MELLES et alii²⁰. A análise estatística utilizou o teste do qui-quadrado e o teste para duas médias em amostras independentes, ao nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Foi possível identificar o agente etiológico em 388 (60,53%) das 641 amostras de LCR analisadas, ficando todas as demais sem identificação (tabela 1).

Do total de amostras estudadas, 247 (38,53%) apresentaram antibacterianos em concentrações detectáveis, ao contrário das outras 394 (61,47%) amostras de LCR. As taxas de identificação dos agentes etiológicos foram diversas nesses dois grupos. Dentre as 247 amostras nas quais detectou-se antibacterianos, 126 (51,0%) tiveram os agentes identificados, enquanto 121 (49,0%) não o tiveram. Já entre as 394 amostras virtualmente sem antibac-

TABELA 1

Distribuição percentual das amostras estudadas segundo a presença ou não de antibiótico no LCR e a identificação ou não do agente etiológico

Antibiótico \ Agente etiológico	Identificado		Não Identificado		Total	
	nº	(%)	nº	(%)	nº	(%)
Presente	126	(51,00)	121	(49,00)	247	(38,53)
Ausente	262	(66,50)	132	(33,50)	394	(61,47)
Total	388	(60,53)	253	(39,47)	641	(100,00)

TABELA 2

Distribuição das amostras estudadas segundo o diâmetro do halo de inibição bacteriana

halo de inibição (mm) \ Agente etiológico	Identificado		Não Identificado		Total
	nº	(%)	nº	(%)	
0	262	(67,52)	132	(52,17)	394
1-9	1	(0,25)	0	(0,00)	1
10-15	18	(4,64)	27	(10,68)	45
16-20	23	(5,95)	34	(13,44)	57
21-24	19	(4,90)	25	(9,89)	44
25-28	24	(6,18)	13	(5,13)	37
29-32	27	(6,96)	16	(6,32)	43
33-40	14	(3,60)	6	(2,37)	20
Total de Casos	388	(100,00)	253	(100,00)	641

terianos, os agentes etiológicos puderam ser diagnosticados em 262 (66,5%). A presença de antibióticos diminuiu significativamente ($p < 0,05$) a taxa de identificação etiológica.

A tabela 2 apresenta a distribuição das amostras de LCR estudadas segundo o diâmetro do halo de inibição do crescimento bacteriano e a identificação ou não do agente etiológico. O nível médio de antibacterianos, avaliado pelo diâmetro dos halos de inibição, é significativamente menor ($p < 0,05$) nas amostras em que foi possível diagnosticar o agente etiológico.

DISCUSSÃO

As bactérias que mais freqüentemente causam infecções meningéas são denominadas "frágeis", pois apresentam baixa sobrevivência no meio ambiente, e requerem cuidados especiais para o cultivo. O diagnóstico etiológico das meningites bacterianas demanda, portanto, uma atenção redobrada durante o transporte e a semeadura imediata do LCR. E a presença de antibacterianos no LCR é, assim, um fator a mais a ser considerado na eventual indeterminação do agente etiológico.

A diferença encontrada nas taxas de identificação do agente etiológico entre as amostras com e sem antibacterianos demonstra a importância da

pesquisa prévia de antibacterianos no LCR quando a amostra é submetida ao exame laboratorial.

Considerando apenas as amostras nas quais um agente etiológico foi identificado, verificamos que quase um terço delas continham antibacterianos; já entre as amostras nas quais nenhum agente foi identificado, praticamente a metade continha antibacterianos. Esses resultados, assim como os relatados por diversos autores^{6,16,24}, reforçam a convicção de que o tratamento prévio influi na caracterização das meningites purulentas.

A concentração de antibacterianos no LCR também demonstrou importante influência sobre o diagnóstico etiológico, sugerindo que a duração do tratamento prévio é fator a ser considerado. Esse resultado diverge daqueles encontrados por outros autores^{13,25} que, no entanto, não dispunham de amostras tão grandes.

CONCLUSÃO

A presença de antibacterianos no LCR diminui significativamente a possibilidade de identificar o agente etiológico das meningites purulentas.

A concentração de antibacterianos foi significativamente menor nas amostras em que a identificação etiológica foi possível, quando havia antibacterianos presentes no LCR.

MELLES, C.E.A.; LANDGRAF, I.M. & BARATA, R.C.B. — Bacterial meningitis I: Interference of antimicrobial drugs in cerebrospinal fluid for etiological diagnosis. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):43-47, 1988.

ABSTRACT: Cerebrospinal fluid (CSF) samples from 641 patients who were clinically suspected that were suffering from bacterial meningitis were analyzed. The presence of antimicrobial drugs was detected in 247 (38.50%) samples. The etiological agent was identified in 388 (60.53%) samples by means of bacteriological procedures and counter-immunoelectrophoresis (CIE) assay for antigen detection. It was observed that the occurrence of antimicrobial drugs in CSF significantly decreases the finding of etiological agent ($p < 0,05$), and the chemotherapeutic agent's concentrations, measured by the size of inhibition zone, were significantly smaller in those samples where the etiological agent was identified ($p < 0,05$). According to these data, the presence of antimicrobial drugs in CSF may interfere with the laboratorial diagnosis for identification of bacterial meningitis' etiological agent.

DESCRIPTORS: meningitis, bacterial, laboratorial diagnosis; meningitis, bacterial, antimicrobial drugs interference in etiological elucidation.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BASTOS, C.O.; TAUNAY, A.E.; GALVÃO, P.A.A.; TIRIBA, A.C.; CASTRO, I.O. & LOMAR, A.V. — Meningites: considerações gerais sobre 15067 casos internados no Hospital "Emílio Ribas" durante o decênio 1958-1972. Ocorrência etiológica e letalidade. *Rev. Assoc. méd. bras.*, 19(11):451-456, 1973.
2. CARVALHO, E.S.; NISKIER, H.; PESSOA, M.C.; CARVALHO, L.H.F.R. & FARHAT, K.C. — Incidência das meningites bacterianas. *Clin. geral* 12(4):23-25, 1978.
3. COLONNELO, F. — Les meningites suppurées traitées. *G. Mal. infect.* 18(11):724-739, 1966.
4. DE MATTIA, R. & DI NOLA, F. — Aspetti epidemiologici e clinici delle meningiti purulente. *G. Mal. Infect.* 20(5):406-411, 448, 1968.
5. DUPOUY, D.; MESMIN, F.; PENNAFORTE, F.; PUIG, M.T. & COUCHOT, J. — Les méningites purulentes du nourrisson et de l'enfant: a propos de 144 observations. *Ann. Pédiat.* 18(8/9):507-516, 1971.
6. ESRACHOWITZ, S.R. — Pyogenic meningitis. — A study of 303 cases. *S. Afr. med. J.* 35(3):101-104, 1961.
7. FINLAND, W.E.; JONES, Jr., W.F. & BARNES, M.W. — Occurrence of serious bacterial infections since introduction of antibacterial agents. *JAMA* 170(18):2188-2197, 1959.
8. FRASER, D.W.; MITCHELL, J.E.; SILVERMAN, L.P. & FELDMAN, R.A. — Undiagnosed bacterial meningitis in Vermont children. *Amer. J. Epidemiol.* 102(5):394-399, 1975.
9. GONZALES, A.F. — Bacteriología de las meningites purulentas através de cinco campañas de epidemia (1970-71, 1971-72, 1972-73, 1973-74, y 1974-75). *Rev. Sanid. Hig. publ.* 51(3/4):325-339, 1977.
10. GOMES, L.S.S.; BRITO E SILVA, N.; RIBAS, J.C.; RUGAY, E.; AMOROSINO, A. & DELLE CAVE, J.J. — Meningite cerebro-espinal e sulfamidação maciça preventiva. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 10:77-87, 1950.
11. GROOVER, R.V.; SUTHERLAND, J.M. & LANDING, B.H. — Purulent meningitis of newborn infants. *New Engl. J. Med.* 264(22):1115-1121, 1961.
12. HAGGERTY, R.J. & ZIAI, M. — Acute bacterial meningitis. *Adv. Pediat.* 13:129-181, 1964.
13. HARTER, D.H. — Preliminary antibiotic therapy in bacterial meningitis. *Arch. Neurol.* 9:343-347, 1963.
14. HEYCOCK, M.C. — Partilly treated meningitis in infants. *Brit. med. J.* 1(5122):629-630, 1959.
15. HYLAND, H.H. — Modern experience in bacterial meningitis. *Can. med. Assoc. J.* 81(11):883-335, 1959.
16. JONES, R.G. — Bacterial meningitis. Part I. Incidence and diagnosis. *S. Afr. med. J.* 41:75-79, 1967.
17. JONSSON, M. & ALVIN, A. — A 12-year review of acute bacterial meningitis in Stockholm. *Scand. J. infect. Dis.* 3(2):141-150, 1971.
18. LIMA, J.P.C. — Meningites bacterianas em São Paulo. *An. paul. Med. Cirurg.* 24(3):145-149, 1932.
19. MELLES, C.E.A.; RAMIRES, M.R.N.; DINIZ, J.M.P.; ADELINO, M.G.F.; TAUNAY, A.E. & ROSSI, C.V. — Estudo comparativo de métodos diagnósticos das meningites purulentas. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 20(4):202-207, 1978.
20. MELLES, C.E.A.; LEE, I.M.L. & TAUNAY, A.E. — Pesquisa de antibacterianos no líquido cefalorraquidiano. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(2):155-159, 1984.

MELLES, C.E.A.; LANDGRAF, I.M. & BARATA, R.C.B. — Meningites bacterianas. I: Interferência de antibacterianos presentes no líquido cefalorraquidiano no diagnóstico etiológico. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):43-47, 1988.

21. Ministério da Saúde-Secretaria Nacional de Ações Básicas de Saúde. Divisão Nacional de Laboratórios de Saúde Pública. — *Normas Técnicas para o diagnóstico das meningites bacterianas*. Brasília, Centro de Documentação do Ministério da Saúde, 1986.
22. NEAL, J.B. — Influenzal meningitis. *Arch. Pediat.* 38:1-10, 1921.
23. NEAL, J.B. — Meningococic meningitis in children. *JAMA* 105(8):568-571, 1935.
24. QUAADE, F. & KRISTENSEN, K.P. — Purulent meningitis. A review of 658 cases. *Acta. med. scand.* 171(5):543-550, 1962.
25. ROMER, F.K. — Bacterial meningitis: a 15 years review of bacterial meningitis from departments of internal medicine. *Dan. med. Bull.* 24(1):35-40, 1977.
26. SCHMID, A.E. & GALVÃO, P.A.L.A. — Alguns aspectos epidemiológicos da meningite meningocócica no município de São Paulo. *Arq. Hig. Saúde publ.* 26(87):15-39, 1961.
27. WILSON, F.M. & LERNER, A.M. — Etiology and mortality of purulent meningitis at the Detroit receiving hospital. *New Engl. J. Med.* 271(24):1235-1238, 1964.

Recebido para publicação em 7 de junho de 1988.

DETERMINAÇÃO DA DL-LISINA EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS E DIETÉTICOS*

Maria Auxiliadora CHAVES**
Amélia Shioko AKATUKA**
Mariangela Tirico AURICCHIO**

RIALA6/643

CHAVES, M.A.; AKATUKA, A.S. & AURICCHIO, M.T. — Determinação da DL-lisina em produtos farmacêuticos e dietéticos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):49-55, 1988.

RESUMO: O presente trabalho estabelece técnica de doseamento de DL-lisina em preparações farmacêuticas ou dietéticas, onde também fazem parte da fórmula substâncias como: Cloridrato de buclisina, vitaminas A e do complexo B e D, triptofano, ácido glutâmico e Cloridrato de betaína. A técnica proposta não requer extração prévia da lisina, e utiliza o nitroprussiato de sódio e tetraborato de sódio, que reagem com o referido aminoácido, formando um composto colorido, com máximo de absorção em 545nm.

DESCRITORES: DL-lisina em medicamentos e suplementos dietéticos, determinação; medicamentos, DL-lisina em, determinação; suplementos dietéticos, DL-lisina em, determinação.

INTRODUÇÃO

A lisina, aminoácido essencial à dieta, desempenha importante papel nutricional no crescimento humano, tornando necessária sua ingestão através de variados alimentos protéicos e de suplementos dietéticos.

As primeiras técnicas analíticas, altamente seletivas para a determinação de lisina, utilizaram como reagente a enzima L-lisina descarboxilase, onde o dióxido de carbono liberado era medido manométricamente^{9,10,14}.

Utilizando ainda o método enzimático, foram aprimorados os sistemas de separação e detecção dos produtos da reação enzimática, tais como eletrodo seletivo, cromatografia de troca iônica^{4,5,12,14} e fluorimetria, a partir da formação prévia de um derivado fluorogênico da carnitina.

A espectrofotometria de absorção na região do visível também é empregada para o doseamento da

lisina. CARPENTER¹ utilizou a reação do 1-flúor-2,4-dinitrobenzeno com os grupos ϵ -aminos livres da lisina contida na estrutura protéica (lisina biodisponível) e, após a hidrólise ácida, o produto colorido foi extraído e a leitura espectrofotométrica efetuada na região de 346 nm⁶. Outros autores^{3,4} aprimoraram essa técnica introduzindo, além do reagente citado anteriormente, as seguintes substâncias químicas: ácido 2,4,6-trinitrobenzenossulfônico e metacrilato, permitindo a determinação da lisina biodisponível e não disponível existente na proteína.

Com a introdução da cromatografia líquida de alta resolução, a lisina passou a ser determinada com alto grau de sensibilidade e reprodutibilidade, utilizando-se diferentes técnicas de detecção^{2,7,8,13}.

Apesar de existirem métodos altamente sofisticados para a quantificação da lisina em diferentes produtos, nem todo laboratório poderá efetuar a não disponibilidade de equipamentos e de reativos especiais de custos elevados. Devido à necessi-

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

dade do controle quantitativo da lisina em formulações medicamentosas existentes no comércio, os autores se propõem a desenvolver metodologia espectrofotométrica na região do visível, baseada na reação de identificação da DL-lisina inscrita na Farmacopéia Francesa, 8ª edição¹¹.

MATERIAL E MÉTODO

Material

A técnica desenvolvida pelos autores foi testada em 18 amostras de diferentes medicamentos recebidos para análise no IAL, sendo 12 na forma de solução, 5 comprimidos e uma suspensão, utilizados como complementação alimentar, que são industrializados e comercializados na cidade de São Paulo, e que contém em sua formulação lisina e outros componentes, tais como vitamina A, B₁, B₂, B₆, B₁₂ e D₂, nicotinamida, pantotenato de cálcio, gluconato de cálcio, hipofosfito de cálcio, citrato férrico amoniacal, hipofosfito de magnésio, hipofosfito de manganês, triptofano, acetilmetionina, inositol, extrato de fígado em pó, DL-carnitina, sorbitol, buclizina, fluoreto de sódio, fosfato tricálcico, sulfato de cobre, extrato de mucosa gástrica, sacarina sódica, nipagin e cloridrato de betaina.

Equipamento

Espectrofotômetro (Varian, mod. 635)

Reagentes

Nitroprussiato de sódio p.a.
Tetraborato de sódio p.a.
Acetona p.a.
Monocloridrato de DL-lisina

Soluções

Solução de nitroprussiato de sódio a 5% em água destilada.

Solução de tetraborato de sódio a 5% em água destilada.

Solução padrão de monocloridrato de DL-lisina: dissolver 150 mg de monocloridrato de DL-lisina em água destilada. Transferir quantitativamente para balão volumétrico de 100 ml e completar o volume com água destilada (1 ml desta solução contém 1,5 mg de monocloridrato de DL-lisina).

Solução amostra: preparar uma solução aquosa da amostra que contenha cerca de 1,5 mg de monocloridrato de DL-lisina por ml.

Curva de calibração — Pipetar alíquotas, respectivamente, de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 ml de solu-

ção padrão de monocloridrato de DL-lisina para balões volumétricos de 25 ml. Adicionar água destilada suficiente para que o volume de solução permaneça em 5 ml em cada um dos balões. Colocar em cada balão 4 ml de acetona, 1 ml de solução nitroprussiato de sódio a 5% e 5 ml de solução de tetraborato de sódio a 5%. Agitar levemente e deixar em repouso por 60 minutos ao abrigo da luz. Completar o volume de cada balão com água destilada e efetuar imediatamente as leituras de absorvância a 545 nm em espectrofotômetro, usando como branco água destilada, em cubetas de 1 cm de espessura. Traçar a curva de calibração em papel milimetrado, colocando-se as leituras de absorvância no eixo das ordenadas e o valor das concentrações no eixo das abscissas.

Determinação da DL-lisina na amostra: Pipetar 1 ml da solução amostra e transferir para um balão volumétrico de 25 ml, e proceder como o descrito em curva de calibração. Calcular a quantidade de DL-lisina utilizando-se a curva de calibração pré-estabelecida.

RESULTADOS

Para o procedimento analítico descrito na obtenção da curva padrão, fixaram-se as concentrações de nitroprussiato de sódio a 5% e tetraborato de sódio a 5%, consideradas ideais.

O desvio padrão calculado foi de 2,3% e os testes de recuperação de DL-lisina revelaram valor médio de 98,3%. O tratamento estatístico dos dados experimentais estão apresentados na tabela 1.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Analisando-se a curva padrão, constata-se que a faixa de concentração de monocloridrato de DL-lisina que obedece à Lei de Lambert-Beer, após a formação do composto colorido, está compreendida entre 60 e 150 µg por ml, sendo que a melhor leitura de absorvância foi obtida com solução de 120 µg por ml. Destes dados depreende-se que a técnica proposta tem boa aplicação nas amostras onde a quantidade de monocloridrato de DL-lisina a ser determinada não seja demasiadamente pequena, como é o caso de medicamentos e produtos dietéticos, não se destinando à pesquisa bioquímica onde seus níveis de concentração são bem menores.

Foi estabelecido o intervalo de 60 minutos após a adição dos reagentes, porque as melhores faixas de leitura foram obtidas neste tempo, após o que, começaram a decrescer.

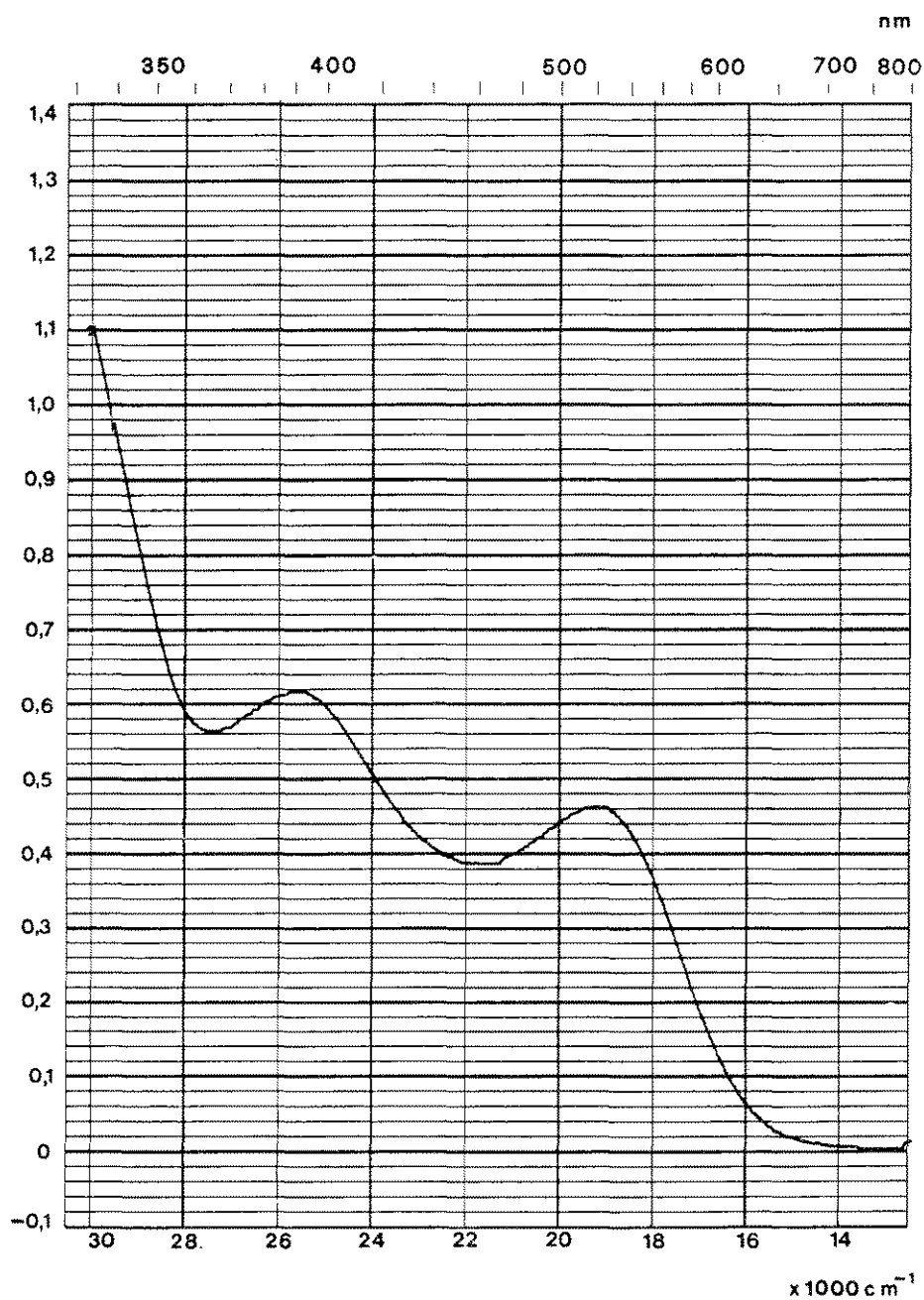


FIGURA 1 — Perfil espectrofotométrico na região de absorção do visível para o composto colorido formado com uma solução padrão de cloridrato de DL-lisina na concentração de 120 μg por ml.

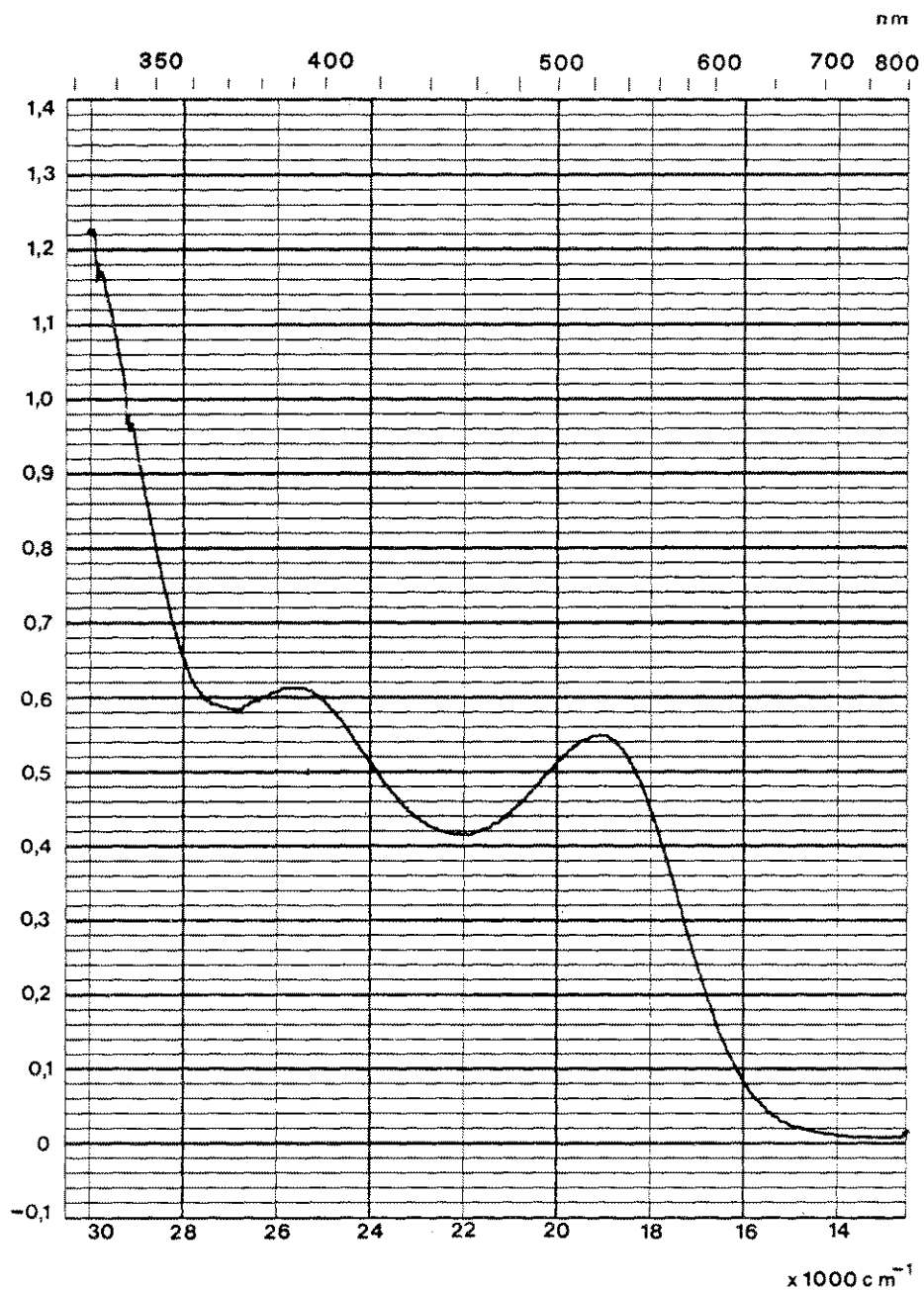


FIGURA 2 —Perfil espectrofotométrico na região de absorção do visível do composto colorido formado com uma solução amostra de cloridrato de DL-lisina, na concentração de 120 µg por ml.

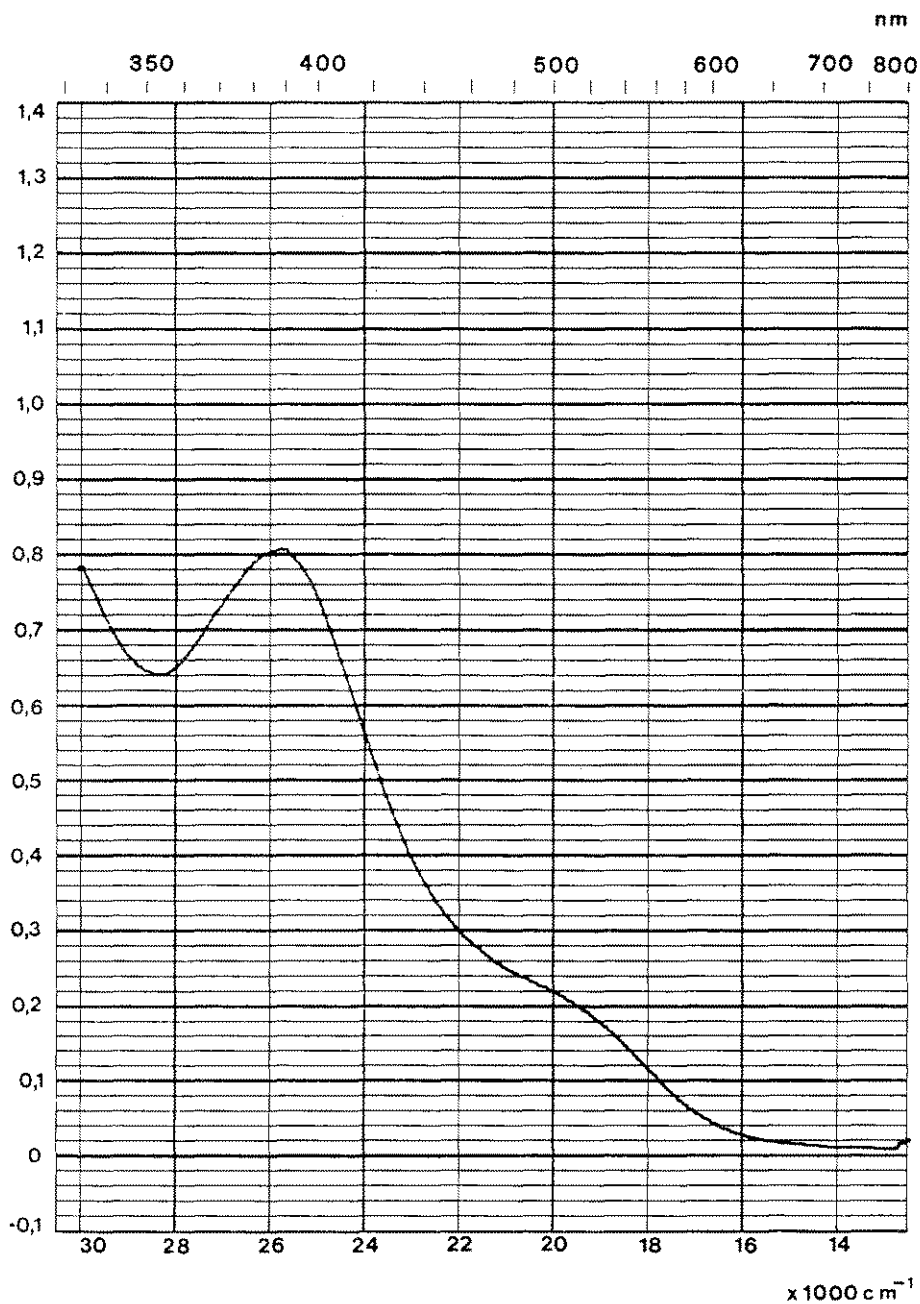


FIGURA 3 — Perfil espectrofotométrico na região de absorção do visível do branco dos reativos utilizados para o desenvolvimento da reação colorimétrica.

TABELA 1

Sumário dos dados estatísticos para o cloridrato de DL-lisina empregando-se o método colorimétrico

Dados estatísticos	Cloridrato de DL-lisina
Intervalo em que a lei de Lambert – Beer é obedecida (μg por ml)	60 a 150 μg
Inclinação da reta (valor de b)	0,004
Intersecção com o eixo do y (valor de a)	-0,139
Coefficiente de correlação	0,993
Equação da reta	$A = -0,139 + 0,004 c$

Paralelamente, foi determinado o perfil espectrofotométrico do branco com os reagentes empregados no desenvolvimento da reação colorida e constatou-se que os mesmos apresentam máximo de absorção em 390 nm, aproximadamente. Os reagentes não exibem absorção em 545 nm, que é o ponto de máxima absorção para o composto colorido formado com o monoclórato de DL-lisina, como pode ser constatado na figura 3.

Em função destas observações pode-se utilizar a água como branco, para o acerto do aparelho.

Os resultados dos perfis espectrofotométricos das amostras e do padrão revelaram que nas diferentes amostras analisadas pela técnica proposta, os

valores de monoclórato de DL-lisina não sofreram interferência analítica dos outros componentes presentes na formulação (Figuras 1 e 2).

A técnica proposta para determinação do monoclórato de DL-lisina não exige extração prévia do aminoácido, ao contrário dos demais métodos colorimétricos, tornando-a adequada para a rotina de análise de formulações complexas de medicamentos e produtos dietéticos.

Por sua simplicidade, precisão, sensibilidade e rapidez na execução, recomenda-se esta metodologia como alternativa aos laboratórios que não possam dispor de equipamentos sofisticados e reagentes de custos onerosos.

RIALA6/643

CHAVES, M.A.; AKATUKA, A.S. & AURICCHIO, M.T. — Determination of DL-lysine in pharmaceuticals and dietetics products. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):49-55, 1988.

ABSTRACT: A method for quantification of DL-lysine monochloride in pharmaceuticals and dietetics products without previous extraction was proposed. Other substances as buclizine hydrochloride, vitamin A, D and B complex, tryptophan, glutamic acid, betaine hydrochloride, when presented in such products, did not interfere in this reaction. In this method, lysine reacts with sodium tetraborate and sodium nitroprussiate, producing a colored compound, which exhibits maximum absorption at the wavelength at about 545nm.

DESCRIPTORS: DL-lysine in dietetic supplements and pharmaceuticals, determination; dietetic supplements, DL-lysine in, determination; pharmaceuticals, DL-lysine in, determination.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARPENTER, K.J. — The estimation of the available lysine in animal protein foods., *Biochem. J.*, 77:604-10, 1960.
- DAVIS, A.T., INGALLS, S.T. & HOPPEL, C.L. — Determination of free trimethyllysine in plasma and tissue specimens by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, 306:79-87, 1984.

3. FINLEY, J.W., & FRIEDMAN, M. — Chemical methods for available lysine. *Cereal Chem.*, **50**:101-5, 1973.
4. GREENSTEIN, J.P. & WINITZ, M. — *Chemistry of the amino acids*. New York, John Wiley, 1961. v.3, p.2097-124.
5. HENNECKE, M. & PLAPP, B.V. — Quantitative analysis of lysine analogs and derivatives. *Anal. Biochem.*, **136**:110-18, 1984.
6. KAKADE, M.L. & LIENER, E.I. — Determination of available lysine in proteins. *Anal. Biochem.*, **27**:273-80, 1969.
7. KELLEY, J. & CHRIN, L. — Thin-layer chromatography of collagen analysis. *J. Chromatogr.*, **311**:400-4, 1984.
8. MORO, L.; MODRICKY, C.; STAGNI, N.; VITTOR, F. & de BERNARD, B. — High-performance liquid chromatographic analysis of urinary hydroxylysyl glycosides as indicator of collagen turnover. *Analyst*, **109**:1621-2, 1984.
9. NEUBERGER, A. & SANGER, F. — The metabolism of lysine. *Biochem. J.*, **38**:119-25, 1944.
10. NEUBERGER, A. — The lysine content of casein and zein. *Biochem. J.*, **158**:717, 1945.
11. PHARMACOPÉE française. 8^{ème} ed. Paris, Ordre National des Pharmaciens, 1965. p.653-4.
12. TILLER, J.M. & BLOXAM, D.L. — An enzymatic fluorometric assay for L-lysine in plasma and tissue. *Anal. Biochem.*, **131**:426-9, 1983.
13. TOMARELLI, R.M.; YUHAS, R.J.; FISHER, A. & WEABER, J.R. — An HPLC method for the determination of reactive (available) lysine in milk and infant formulas. *J. Agric. Food Chem.*, **33**:316-8, 1985.
14. VIENOZINSKIENE, J.; JANUSEVICIUTE, R.; PAULIUKONIS, A. & KAZLAUSKAS, D. — Lysine decarboxylase assay by the pH-stat method. *Anal. Biochem.*, **146**:180-3, 1985.
15. ZITTLE, C.A. & ELDRED, N.R. — Determination of L-lysine with a specific decarboxylase. *J. Biol. Chem.*, **156**:401-9, 1944.

Recebido para publicação em 7 de junho de 1988.

PNEUMONIA INFANTIL POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*:
DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO ESPECÍFICO*

Heloisa Helena B. MELLES**
Sílvia COLOMBO**
Bernardo EJZEMBERG***

RIALA6/644

MELLES, H.H.B.; COLOMBO, S.; EJZEMBERG, B. — Pneumonia infantil por *Chlamydia trachomatis*: diagnóstico sorológico específico. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):57-62, 1988.

RESUMO: No período de março de 1985 a março de 1988, soros de 125 crianças com quadro clínico de infecção pulmonar foram submetidas a exame sorológico para pesquisa de anticorpos para *Chlamydia trachomatis* pela reação de imunofluorescência indireta; 18 soros (14,4%) foram positivos com título de anticorpos $IgM \geq 1:32$. Se considerarmos apenas aquelas crianças com pneumonia intersticial, i.e. 80 crianças, 17 (21,3%) foram positivas. Somente uma (2,5%) das 45 crianças sem quadro de pneumonia apresentou título de anticorpos $IgM \geq 1:32$. Analisou-se a sensibilidade e especificidade da reação de imunofluorescência indireta para pesquisa de anticorpos anticlamídia em casos de pneumonia.

DESCRITORES: pneumonia, *Chlamydia trachomatis*; clamídia, diagnóstico sorológico.

INTRODUÇÃO

A *Chlamydia trachomatis*, segundo os conhecimentos atuais, é um patógeno especificamente humano, sendo agente etiológico do tracoma, conjuntivite de inclusão, infecções do trato urinário e genital, linfogranuloma venéreo, pneumonia infantil, miocardite aguda, síndrome de Reiter e, supostamente, de infecções do trato gastrointestinal.

A infecção por *C. trachomatis* no recém-nascido é transmitida através do canal cervical infectado da mãe para seu filho no momento do parto. Alguns estudos revelam que a prevalência da infecção da cervix em grávidas varia de 5 a 13%¹³. Duas manifestações clínicas mais importantes são decorrentes, para a criança, desta exposição materno-fetal: a ocorrência de conjuntivite purulenta denominada conjuntivite de inclusão do recém-nascido e de pneumonia^{1,18}.

A incidência da infecção perinatal está estimada em cerca de 33 a 50%⁹ e é decorrente da existência de infecção na cervix uterina da mulher grávida.

A pneumonia infantil geralmente ocorre entre 3 a 16 semanas de idade. O quadro pulmonar se apresenta sob a forma de pneumonia afebril com taquipnéia, e o quadro radiológico apresenta infiltrado do tipo intersticial bilateral e simétrico. Embora o quadro de pneumonia por *C. trachomatis* tenha sinais e sintomas distintos das outras pneumonias, o diagnóstico etiológico de certeza deverá basear-se no isolamento da clamídia do trato respiratório inferior ou no estudo da resposta sorológica específica. Aproximadamente 60 a 70% das crianças expostas desenvolvem evidências sorológicas desta infecção^{1,13}.

Por haver infecção nasofaríngea sem que haja comprometimento pulmonar^{1,18}, a amostra

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas, S.P.

ideal para isolamento do agente etiológico da pneumonia infantil seria a obtida por métodos invasivos, o que raramente é possível.

Schachter et al.¹³ sugerem que a presença de anticorpos da classe IgM específicos para *C. trachomatis* em título igual ou maior que 1:32 em uma única amostra de soro seria o método mais conveniente para o diagnóstico de pneumonia por esse agente em recém-nascidos. Esta determinação pode ser feita pela imunofluorescência indireta usando como antígeno uma amostra de clamídia, ou também pela microimunofluorescência simplificada¹⁹ ou por ensaio imunoenzimático (EIE)⁶.

Considerando que crianças com pneumonia por *C. trachomatis* apresentam alto título de anticorpos IgM específicos para esta infecção e que na literatura nacional especializada nada encontramos a esse respeito, planejamos fazer um estudo sorológico em crianças hospitalizadas apresentando quadro pulmonar.

Neste trabalho, apresentamos os resultados sorológicos obtidos, sua interpretação e implicações relacionadas com os achados no exterior sobre o assunto.

MATERIAL E MÉTODO

Foram estudadas 125 crianças de menos de duas até 32 semanas de idade e que apresentavam algum tipo de patologia pulmonar, estando internadas em clínicas pediátricas de Hospitais Gerais da cidade de São Paulo no período de março de 1985 a março de 1988. Foram divididas clinicamente em três grupos: 1º) 80 crianças que apresentavam quadro de pneumonia intersticial com características da infecção por *C. trachomatis*; 2º) 40 crianças com alguma pneumopatia apresentando sinais de insuficiência respiratória ou de bronquiolite, etc; 3º) 5 crianças com quadro respiratório, porém, com infecção em outros aparelhos. Foi colhida amostra de sangue por punção venosa, e os soros, após separação, foram mantidos a -20°C até a determinação do título de anticorpos IgM e IgG específicos para *C. trachomatis*.

A metodologia empregada foi a reação de imunofluorescência indireta, utilizando como antígeno as inclusões produzidas pela amostra L₂ da *C. trachomatis* em cultura de células contínuas denominadas McCoy, tratadas com cycloheximida^{8,10}, com algumas modificações. As células McCoy infectadas com a amostra L₂ foram tratadas com tripsina/versene e lavadas uma vez com solução balanceada de Hanks e outra com solução tamponada de fosfato (PBS) de pH7,2 através de centrifugação em baixa rotação (750 rpm/min.). Em seguida, as

células foram re-suspensas em PBS pH7,2 de modo a obter-se número de células pré-estabelecido¹⁶. Foram colocados 10 µl dessa suspensão em cada orifício de lâminas próprias para imunofluorescência e deixadas secar à temperatura ambiente. As lâminas foram fixadas em acetona por 10 min. a 4°C, e em seguida foram novamente deixadas secar à temperatura ambiente e estocadas a -70°C.

O teste para detecção dos anticorpos consistiu em diluições seriadas dos soros partindo de 1:8 até 1:64 para os anticorpos da classe IgG e de 1:8 até 1:32 para os anticorpos da classe IgM. Foi colocada uma gota de cada diluição do soro em orifício de duas lâminas previamente com antígeno, nas quais, após período de incubação de 30 min. a 37°C, foram colocados anticorpos específicos para IgG e IgM respectivamente, conjugados à fluoresceína. Para cada anticorpo marcado (anti-IgG e anti-IgM) foram feitos controles com soros conhecidamente positivo e negativo, assim como foram feitos controles de células não inoculadas. A leitura da reação foi feita após 30 min. de incubação a 37°C. O título final da reação foi tomado como a maior diluição do soro que revelasse intensidade de fluorescência igual ou maior que duas cruzes (+ +).

Para facilitar a avaliação futura dos resultados da IF, foram considerados os seguintes critérios: a) *positivo*: quando o título dos anticorpos IgM fosse igual ou maior que 1:32; b) *sugestivo*: quando o título de anticorpos IgM fosse inferior a 1:32, ou então quando o título de IgG fosse alto, isto é, igual ou maior que 1:64 e o IgM fosse igual ou menor que 1:16; c) *negativo*: quando o título de IgM fosse igual a 1:8 ou não fosse detectado qualquer título.

Como o fator reumatóide interfere particularmente nas pesquisas de IgM, ficou assentado que todos os soros positivos para essa classe de imunoglobulina seriam examinados para a presença desse fator pela técnica de aglutinação em lâmina, segundo Singer¹⁷, com reativo adquirido comercialmente.

RESULTADOS

Do total de 125 crianças estudadas, 18 (14,4%) apresentaram reação de IF positiva com título de anticorpos IgM específicos para *C. trachomatis* maior ou igual a 1:32. Dentro dos critérios adotados, estes soros foram considerados positivos para pneumonia causada por esse agente (tabela 1).

Ao considerarmos os resultados sorológicos com a distribuição em três grupos de acordo com a suspeita clínica, obtivemos as seguintes evidências: de 80 crianças do 1º grupo, 17 (21,3%) apresentaram anticorpos IgM ≥ 1:32 (tabela 2), enquanto

TABELA 1

Anticorpos IgM em crianças de 0 a 8 meses de idade com suspeita de infecção por C. trachomatis

Idade: semanas	Anticorpos IgM			Nº pos./Nº test. (%)*
	Positivo	Sugestivo	Negativo	
até 2	—	—	6	0/6 (0,0)
3 — 4	8	1	14	8/23 (34,8)
5 — 8	7	—	39	7/46 (15,2)
9 — 12	1	—	14	1/15 (6,6)
13 — 16	—	—	12	0/12 (0,0)
17 — 20	1	1	10	1/12 (8,3)
21 — 24	—	—	3	0/3 (0,0)
25 — 28	1	—	4	1/5 (20,0)
29 — 32	—	—	3	0/3 (0,0)
Total	18	2	105	18/125 (14,4)

* Porcentagem de positivos.

TABELA 2

Grupo 1: — Sorologia para pacientes com quadro clínico sugestivo de pneumonia intersticial por C. trachomatis

Idade: semanas	Nº soros testados	Anticorpos IgM		
		Positivo	Sugestivo	Negativo
até 2	2	—	—	2
3 — 4	14	8	1	5
5 — 8	31	6	—	25
8 — 12	11	1	—	10
13 — 16	7	—	—	7
17 — 20	8	1	—	7
21 — 24	2	—	—	2
25 — 28	4	1	—	3
29 — 32	1	—	—	—
Total	80	17 (21,3%)*	1	62

* Porcentagem de positivos.

que, de 40 crianças do 2º grupo, apenas uma (2,5%) apresentou esse título de anticorpos IgM (tabela 3). As crianças do 3º grupo, em número de 5, não apresentaram títulos sequer sugestivos de anticorpos IgM da infecção pela clamídia.

Detalhando o resultado do 1º grupo, que é o que mais nos interessa, verificamos que de 80 crianças suspeitas de pneumonia pela *C. trachomatis*, 17 (21,3%) tiveram essa etiologia confirmada pelo exame sorológico específico, isto é, pela

determinação do IgM específico para este agente. Obviamente, houve correlação entre o número de positivos e a suspeita do quadro clínico.

Níveis detectáveis de IgM para esse agente foram mais frequentes na faixa etária de 3 a 8 semanas.

Das 125 crianças estudadas, 23 (18,4%) apresentaram título de anticorpos IgG específicos para *C. trachomatis* igual ou superior a 1:64 (tabela 4).

TABELA 3

Grupo 2 — Sorologia para pacientes com pneumopatia não sugestiva de infecção por clamídia.

Idade: semanas	Nº soros testados	Anticorpos IgM		
		Positivo	Sugestivo	Negativo
até 2	4	—	—	4
3 — 4	8	1	—	7
5 — 8	13	—	—	13
9 — 12	4	—	—	4
13 — 16	3	—	—	3
17 — 20	4	—	1	3
21 — 24	1	—	—	1
25 — 28	1	—	—	1
29 — 32	2	—	—	2
Total	40	1 (2,5%)*	1	38

* Porcentagem de positivos.

TABELA 4

Anticorpos IgG específicos para *C. trachomatis* no soro de 125 crianças

Idade: semanas	Nº soros testados	Título de anticorpos IgG			
		<16*	16	32	≥64
até 2	9	5	—	1	3
3 — 4	23	12	1	2	8
5 — 8	44	30	4	3	7
9 — 12	15	12	2	—	1
13 — 16	12	10	1	—	1
17 — 20	12	9	—	1	2
21 — 24	3	3	—	—	—
25 — 28	5	3	—	1	1
29 — 32	2	1	1	—	—
Total	125	85	9	8	23 (18,4%)

* Números indicam inverso da diluição.

Destas crianças, 17 (78,2%) apresentaram títulos de IgM ≥ 1:32, isto é, positivos para a infecção estudada. Dentre as outras 5 crianças que apresentaram IgG em altos títulos (≥ 1:64) mas com IgM negativo, 3 tinham menos de duas semanas de idade, com quadro de conjuntivite. Para 2 dessas 3 crianças foi efetuada a reação de imunofluorescência direta com anticorpo monoclonal marcado com fluoresceína para *C. trachomatis* em esfregaço de secreção conjuntival e em ambos os casos os resultados foram positivos. As outras duas crianças tinham entre 2 e 4 meses de idade, sendo que a primeira apresentava quadro de bronquiolite. Obviamente, os anticorpos presentes eram de origem materna.

Outro resultado de interesse foi o obtido em relação ao fator reumatóide. Nenhum soro IgM positivo para *C. trachomatis* resultou positivo nesta prova. Assim sendo, podemos asseverar que o fator reumatóide não interferiu na reação de imunofluorescência e portanto, nos resultados da pesquisa de IgM específico para *C. trachomatis*.

DISCUSSÃO

O diagnóstico sorológico de pneumonia pela *C. trachomatis* pode apresentar algumas dificuldades. O recém-nascido poderá apresentar anticorpos maternos IgG em títulos algumas vezes muito altos,

adquiridos passivamente da mãe. Considerando que somente os anticorpos IgG atravessam a placenta, obviamente, os anticorpos IgM (e IgA) presentes no soro do recém-nascido deverão indicar infecção em atividade na criança. Por vezes, a resposta em anticorpos na criança só poderá ser detectada em níveis muito baixos, porém, mesmo que este fato ocorra, ainda é preferível optar pelo exame sorológico que o isolamento do agente, posto que o cultivo e identificação da *C. trachomatis* levarão cerca de 3 a 6 dias para complementação. Ademais, tem sido demonstrado que melhores resultados para isolamento do agente somente são obtidos quando se dispõe de amostras de secreção do trato respiratório inferior, cuja obtenção em crianças nem sempre é possível⁵. Alguns autores^{1,16} verificaram que são comuns infecções persistentes e clinicamente inaparentes, como consequência da conjuntivite de inclusão. Desse modo, o isolamento da clamídia ou a detecção do agente pela IF direta usando anticorpo monoclonal marcado com fluoresceína a partir de secreções do trato respiratório superior, não teria valor diagnóstico de pneumonia. Resulta que o método sorológico é o de escolha para diagnóstico da pneumonia por clamídia em recém-nascidos.

Em relação à sensibilidade do método usado neste trabalho, temos a comentar que são poucos os trabalhos existentes na literatura sobre comparação dos métodos sorológicos para diagnóstico de clamídia. Entretanto, os autores que compararam seus resultados usando IF e EIE (realizado com antígeno proteico da cepa L₂ da *C. trachomatis*) asseguram que a sensibilidade do método da IF está perto de 100%, isto é, são praticamente iguais aos do EIE⁶, tanto para detectar IgM como IgG. Ainda em relação à sensibilidade do método, deve ser lembrado que em duas crianças o raspado conjuntival pela IF direta foi positivo para *C. trachomatis* e elas apresentaram anticorpos da classe IgG em altos títulos ($\geq 1:64$) e anticorpos IgM negativos. Neste sentido, obviamente, os anticorpos eram maternos. Deve ser destacado, no entanto, que Schachter et al.¹² referem a experiência de que em conjuntivite por clamídia em recém-nascidos, o anticorpo IgM específico para esse agente não é detectado e, nos raros casos em que aparece, seus títulos são baixos. Portanto, a sorologia para conjuntivite causada pela *C. trachomatis* não ajuda o diagnóstico clínico, restando o isolamento do agente e a IF direta em esfregaços conjuntivais como metodologia indicada para o diagnóstico etiológico da infecção localizada⁷.

Quanto à especificidade da reação usada no trabalho, podemos sem dúvida classificá-la como boa, posto que as reações consideradas falso-positivas foram eliminadas em parte com a realização da prova para o fator reumatóide. Reações cruzadas dando resultados falso-positivos (que podem ocorrer com o chamado complexo C dos sorotipos da *C. trachomatis*) não ocorreram, porque a presença ou

aumento de anticorpos IgM foi sempre acompanhada da presença ou aumento do anticorpo IgG. A ausência de anticorpos IgG na presença de anticorpos IgM não ocorreu em nenhum soro positivo para IgM específico para *C. trachomatis* em nosso trabalho. Outro agente, denominado IOL-207⁴, reconhecido como sendo uma clamídia atípica que revela reações sorológicas cruzadas com a *C. trachomatis*, foi desconsiderado em nosso trabalho, porque, do ponto-de-vista soropidemiológico, este agente atípico só foi detectado na população em crianças acima de 5 anos de idade³, afastando assim qualquer possibilidade de ter influido em nossos resultados. Deve ser levado em consideração que 1% da população¹³ apresenta IgM específico para *C. trachomatis* com títulos iguais ou maiores que 1:32 quando padecem de infecção sistêmica por esta clamídia, representando em consequência, resultado falso-positivo para o diagnóstico de pneumonia infantil por *C. trachomatis*. Devido a esta razão, a especificidade do diagnóstico sorológico de pneumonia pela detecção de IgM específico para esta clamídia, está perto de 100%.

Nosso trabalho mostrou que 21,3% das crianças recém-nascidas suspeitas de pneumonia por clamídia realmente padeciam de pneumonia causada pela *C. trachomatis*. Este achado é compatível com os achados de outros autores como Schachter et al.¹⁴ em 1986, em São Francisco nos Estados Unidos, que em estudo prospectivo durante 5 anos, detectaram 16% de pneumonia por esse agente em crianças com quadro clínico suspeito; e Siritantikom et al.¹⁵, na Tailândia, que, embora com menor número de casos estudados, encontraram positividade para *C. trachomatis* em 3 dentre 10 recém-nascidos com pneumonia intersticial.

Generalizando, os autores citam que 11 a 20% das crianças nascidas através da cervix uterina infectada, desenvolvem pneumonia pela *C. trachomatis*³, sendo também importante ressaltar que aproximadamente 30 a 50% das pneumonias que ocorrem nos primeiros seis meses de vida são causadas pela *C. trachomatis*^{9,18}.

Não há dados na literatura nacional para qualquer tipo de projeção destas infecções em nosso país. Entretanto, a projeção feita por Schachter et al.¹⁴ nos Estados Unidos, revela que, tomando por base 3,5 milhões de nascimentos anuais naquele país, são previstos aproximadamente 26.000 casos de pneumonia e 29.000 casos de conjuntivite por ano. A partir desses dados, esses autores inferem que a infecção pela *C. trachomatis* é, possivelmente, a infecção perinatal mais comum.

Agradecimentos

Ao Dr. Luis Florêncio de Salles Gomes, pela colaboração e sugestões recebidas na redação deste trabalho.

MELLES, H.H.B.; COLOMBO, S.; EJZEMBERG, B. — Infantile pneumonia by *Chlamydia trachomatis*: specific serological diagnose. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):57-62, 1988.

ABSTRACT: Sera from 125 children with clinical manifestations of lung infection were tested for antibodies to *Chlamydia trachomatis* by indirect immunofluorescence test; 18 (14.4%) were positives for IgM antibodies (titer \geq 1:32). However if we consider only those children with interstitial pneumonia i.e. 80 children, 17 (21.3%) were positives. Only one (2.5%) out of 45 children with nonpneumonic conditions (bronchiolitis) was positive for IgM antibodies (titer \geq 1:32). Sensitivity and specificity of indirect immunofluorescence test for chlamydia antibodies in pneumonia cases are discussed.

DESCRIPTORS: pneumonia, *Chlamydia trachomatis*, serology.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BEEM, M.O. & SAXON, E.M. — Respiratory-tract colonization and a distinctive pneumonia syndrome in infants infected with *Chlamydia trachomatis*. *N. Engl. J. Med.* 296(6):306-310, 1977.
2. BLACK, S.; GROSSMAN, M.; CEES, L.; SCHACHTER, J. — Serologic evidence of chlamydial infection in children. *J. Ped.* 98:65-67, 1981.
3. BURNEY, P.; FORSEY, T.; DAROUGAR, S.; SITTAMPALAM, Y.; BOOTH, P.; CHAMBERLAIN, R. — The epidemiology of chlamydial infections in childhood: a serological investigation. *Int. J. Epidemiol.* 13(4):491-495, 1984.
4. DURYER, R. StC.; TREHARNE, J.D.; JONES, B.R.; HERRING, J. — Chlamydial infection—results of micro-immunofluorescence tests for the detection of type-specific antibody in certain chlamydial infections. *Br. J. Vener. Dis.* 48:452-459, 1972.
5. HARRISON, H.R.; ENGLISH, M.G.; LEE, C.K.; ALEXANDER, E.R. — *Chlamydia trachomatis* infant pneumonitis, compared with matched controls and other infant pneumonitis. *N. Engl. J. Med.* 298:702-708, 1978.
6. PUOCLAKKAINEN, M.; SAIKKU, P.; LEINONEN, M.; NURMINEN, M.; VAANANEN P.; MAKELA, P.H. — Chlamydial pneumonitis and its serodiagnosis in infants. *J. Infect. Dis.* 149(4):598-604, 1984.
7. RAPOZA, P.A.; QUINN, T.C.; KISSLING, L.C.; GREEN, W.R.; TAYLOR, H.R. — Assessment of neonatal conjunctivitis with a direct immunofluorescent monoclonal antibody stain for chlamydia. *JAMA* 255(24):3369-3373, 1986.
8. RICHMOND, S. & CAUL, E.O. — Fluorescent antibodies studies in chlamydial infections. *J. Clin. Microbiol.* 1(4):345-32, 1975.
9. RIVERA, L.; RODRIGUEZ, J.; GORBEA, H.F.; HERNANDEZ, N.; CHRISTENSON, B.; RAMIREZ-RONDA, C.H. — Chlamydial pneumonia: a review. *Bolet. Assoc. Méd. P. Rico* 76(2):52-55, 1984.
10. SAIKKU, P. & PAAVONEN, J. — Single-antigen immunofluorescence test for chlamydial antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 8(2):119-122, 1978.
11. SCHACHTER, J.; GROSSMAN, M.; HOLT, Y.; SWEET, R.; GOODNER, E.; MILLIS J. — Prospective study of chlamydial infection in neonates. *Lancet* 2:377-380, 1979.
12. SCHACHTER, J.; GROSSMAN, M.; HOLT, R.S.; SPECTOR, S. — Infection with *Chlamydia trachomatis*: involvement of multiple sites in neonates. *J. Infect. Dis.* 139(2):232-234, 1979.
13. SCHACHTER, J.; GROSSMAN, M.; AZINI, P.H. — Serology of *Chlamydia trachomatis* in infants. *J. Infect. Dis.* 146(4):530-535, 1982.
14. SCHACHTER, J.; GROSSMAN, M.; SWEET, R.L.; HOLT, R.S.; JORDAN, C.; BISHOP, E. — Prospective study of perinatal transmission of *Chlamydia trachomatis*. *JAMA* 255(24):3374-3377, 1986.
15. SIRITANTIKOM, S.; KANTANG, R.; PUTHAVATHANA, P.; CHAVALIDDHAWRONG, P.; BOONYAPRAKOB, U.; WASI, C.; THONGCHAROEN, P. — *Chlamydia trachomatis* infection in newborns. *J. Med. Assoc. Thai.* 69(6):312-317, 1986.
16. SMITH, T.F.; BROWN, S.D.; WEED, L.A. — Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections by cell cultures and serology. *Lab. Med.* 13(2):92-100, 1982.
17. SINGER, J.M. & PLOTZ, C.M. — The latex fixation test. I. Application of the serologic diagnosis of rheumatoid arthritis. *Am. J. Med.* 21(6):888-892, 1956.
18. TIPPLE, M.A.; BEEM, M.O.; SAXON, E.M. — Clinical characteristics of the afebrile pneumonia associated with *Chlamydia trachomatis* infection in infants less than 6 months of age. *Pediatrics* 63:192-197, 1979.
19. WANG, S.P.; GRAYSTON, J.T.; ALEXANDER, E.R.; HOLMES, K.K. — Simplified micro-immunofluorescence test with trachomalymphegranuloma venereum (*Chlamydia trachomatis*) antigens for use as a screening test for antibody. *J. Clin. Microbiol.* 1:250-5, 1975.

Recebido para publicação em 7 de junho de 1988.

ENTEROPARASITOSE EM PACIENTES ACOMETIDOS PELA SÍNDROME DE IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA (AIDS/SIDA)*

Rosa Maria Donini Souza DIAS**
Walquiria Pereira PINTO***
Pedro Paulo CHIEFFI**
Ana Célia S. MANGINI**
Domingas Maria A.G. Vieira TORRES**
Rosana DEL BIANCO***
Luciana FERRARI***

RIALA6/645

DIAS, R.M.D.S.; PINTO, W.P.; CHIEFFI, P.P.; MANGINI, A.C.S.; TORRES, D.M.A.G.V.; DEL BIANCO, R. & FERRARI, L. — Enteroparasitoses em pacientes acometidos pela síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS/SIDA). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):63-67, 1988.

RESUMO: No período compreendido entre fevereiro de 1984 e abril de 1987, examinaram-se, na Seção de Enteroparasitoses do Instituto Adolfo Lutz, 771 amostras de fezes de pacientes atendidos pelo Programa de Controle e Prevenção de AIDS, da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Do total, 483 pacientes estavam acometidos por AIDS e os demais 288 pertenciam a grupos de risco para infecção por HIV. Examinaram-se, também, no mesmo período, as fezes de 432 indivíduos atendidos por Unidades Sanitárias mantidas pela rede estadual de atenção primária à saúde, que, por sorteio, constituíram grupo controle. Os resultados indicaram maior frequência de parasitismo por *Entamoeba histolytica* e *Isospora belli* entre os pacientes aidséticos e os pertencentes a grupos de risco para infecção por HIV, além de índices mais elevados de infecção por *Stroglyoides stercoralis* entre os aidséticos, quando comparados aos demais grupos. Revelou-se, ainda, infecção por *Cryptosporidium* sp. em 12,1% dos aidséticos e 2,5% dos componentes de grupos de risco.

DESCRITORES: síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), São Paulo, SP, Brasil; enteroparasitoses na síndrome da imunodeficiência adquirida, São Paulo, SP, Brasil.

INTRODUÇÃO

Estudos efetuados em diversos países têm revelado que grupos de indivíduos do sexo masculino, com hábitos homossexuais, apresentam maior risco, do que indivíduos heterossexuais, de contrair doenças sexualmente transmissíveis como sífilis, gonorréia e hepatite B^{5,8}. Diversas enteroparasitoses também apresentam taxas mais elevadas entre homossexuais masculinos, em decorrência de certas formas de relacionamento sexual, mais comuns nesse grupo^{6,9,10,12,14,15}.

Nos pacientes acometidos pela síndrome de imunodeficiência adquirida, em parte pelo fato de muitos serem homossexuais e talvez pela própria depressão da resposta imunitária, também se evidenciou aumento da frequência de enteroparasitoses comuns como giardíase³, além de outras cuja frequência na população é habitualmente reduzida, como *Isospora belli* e *Cryptosporidium* sp^{7,11,16}.

São escassos, entretanto, estudos que avaliem em nosso meio a frequência com que ocorrem infecções por enteroparasitas entre indivíduos acometidos

* Realizado na Seção de Enteroparasitoses do Serviço de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Do Hospital Emilio Ribas, São Paulo, SP.

por AIDS ou pertencentes a grupos de maior risco para esta infecção. Com o objetivo de fornecer dados que ajudem a preencher essa lacuna, decidimos publicar os resultados referentes a exames parasitológicos de fezes, efetuados na Seção de Enteroparasitoses do Instituto Adolfo Lutz, em indivíduos acompanhados pelo Programa de Prevenção e Controle de AIDS da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

Examinaram-se 771 amostras de fezes encaminhadas pelo Programa de Controle e Prevenção de AIDS, no período compreendido entre fevereiro de 1984 e abril de 1987. As amostras pertenciam a 483 pacientes acometidos por AIDS e a 288 indivíduos incluídos em grupos de risco para essa infecção, sem informação quanto a diagnóstico definitivo. Nesse último grupo, a idade média dos indivíduos examinados foi de 29,1 anos e 286 pertenciam ao sexo masculino e 2 ao feminino.

Os 483 pacientes com diagnóstico de AIDS, classificados conforme as diversas situações clínicas determinadas pela infecção por HIV³, encontravam-se distribuídos da seguinte forma:

Grupo IV (subgrupos A, B, C, D): 270 pacientes, com idade média de 29,3 anos; 259 homens e 11 mulheres.

Grupo III (linfadenopatia persistente generalizada): 24 pacientes, com idade média de 29,6 anos; todos do sexo masculino.

Grupo II (infecção assintomática): 189 pacientes, com idade média de 31,1 anos; 171 do sexo masculino e 12 do feminino.

As amostras de fezes foram examinadas através das técnicas de sedimentação espontânea, Rugai (Baerman modificado) e concentração por formol-éter. Sempre que as fezes apresentassem consistência diminuída ou diarrêica, utilizou-se também o método direto de exame, com e sem coloração pelo lugol.

Ao método de concentração pelo formol-éter, executado com o objetivo de detectar-se a presença de oocistos de coccídeos, especialmente *Cryptosporidium* sp., acoplou-se coloração pela fucsina carbólica-dimetilsulfóxido⁴.

Para permitir comparação entre as freqüências de enteroparasitas diagnosticadas nos pacientes aidéticos e naqueles pertencentes a grupos de risco para infecção por HIV, com as encontradas na população que habitualmente freqüenta as Unidades Sanitárias mantidas pela rede estadual de assistência primária à saúde, foram sorteados 432 indivíduos (idade média 32,1 anos; 412 homens e 20 mulheres)

cujos exames parasitológicos de fezes foram efetuados, no mesmo período, pela Seção de Enteroparasitoses do Instituto Adolfo Lutz. Nas amostras de fezes desse grupo de indivíduos usaram-se, de modo geral, as mesmas técnicas de exame parasitológico, com exceção da concentração pelo formol-éter, seguida de coloração pela fucsina carbólica-dimetilsulfóxido.

Testou-se a significância dos resultados encontrados, nos três grupos estudados, através do teste de Qui Quadrado (χ^2).

RESULTADOS

As tabelas 1 e 2 reproduzem as freqüências de enteroprototozoários e helmintos encontradas nas amostras de fezes examinadas. Ressalte-se que o não encontro de oocistos de *Cryptosporidium* sp. em nenhuma das amostras de indivíduos atendidos pelas Unidades Sanitárias da rede estadual pode ser consequência de não se ter empregado, nesses exames, o método de concentração pelo formol-éter.

DISCUSSÃO

O surgimento da síndrome de imunodeficiência adquirida modificou os padrões de ocorrência de muitas infecções parasitárias nos pacientes acometidos, resultando, freqüentemente, em quadros de maior gravidade, difícil tratamento e índices mais elevados. Entre as parasitoses intestinais, a criptosporidiose e a isosporíase tornaram-se comuns nesses pacientes^{11,16}, constituindo-se em importantes agravos secundários, muitas vezes responsáveis pela piora do estado geral, em decorrência de quadros diarréicos de difícil controle.

Não obstante a elevada freqüência com que têm ocorrido casos de AIDS em nosso meio, não se conhecem estudos que avaliem a importância de enteroparasitoses, de forma sistemática, nos pacientes acometidos por essa síndrome, além da Tese de Mestrado de Jorge Luna Calderón, apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro em 1987 e citada por COURA³. Nesse trabalho, os pacientes aidéticos, quando comparados a grupo controle não aidético, apresentaram além de freqüências elevadas de infecção por *Cryptosporidium* sp. e *Isospora belli*, maiores índices de infecção por *Giardia lamblia*.

No presente trabalho, encontrou-se freqüência elevada de infecção por *Cryptosporidium* sp. entre o grupo de pacientes aidéticos, achado já comentado em outra publicação⁴. Encontraram-se, também, no caso de infecção por protozoários, fre-

TABELA 1

Frequência de enteroprototozoários em pacientes aidéticos e pertencentes a grupos de risco para infecção por HIV, no município de São Paulo, fevereiro de 1984 a abril de 1987.

Enteroprototozoários	Pacientes com AIDS (483)		Pac. de grupos de risco (288)		Controle* (432)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Entamoeba histolytica</i>	25	5,18**	17	5,90**	9	2,08**
<i>Entamoeba coli</i>	59	12,21	32	11,11	43	9,95
<i>Giardia lamblia</i>	41	8,49	15	5,21	30	6,94
<i>Endolimax nana</i>	65	13,46	34	11,80	31	7,18
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	12	2,48	8	2,78	2	0,46
<i>Isopora belli</i>	9	5,73**	6	3,01**	1	0,23**
<i>Cryptosporidium</i> sp.	19	12,10	2	2,51		***

* Indivíduos atendidos por Unidades Sanitárias da rede estadual.

** Diferenças significativas; $p < 0,005$.

*** Amostras não submetidas ao método de concentração pelo formol-éter.

TABELA 2

Frequência de helmintos parasitas intestinais em pacientes aidéticos e pertencentes a grupos de risco para infecção por HIV, no município de São Paulo, fevereiro de 1984 a abril de 1987.

Helmintos	Pacientes com AIDS (483)		Pac. de grupos de risco (288)		Controle* (432)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Ascaris lumbricoides</i>	17	3,52	5	1,74	48	11,11
<i>Trichuris trichiura</i>	20	4,14	9	3,13	37	8,56
Ancylostomidae	13	2,69	3	1,04	6	1,39
<i>Strongyloides stercoralis</i>	24	4,97**	5	1,74	12	2,78**
<i>Enterobius vermicularis</i>	1	0,21	1	0,35	1	0,23
<i>Schistosoma mansoni</i>	8	1,66	1	0,35	1	0,23
<i>Taenia</i> sp.	1	0,21	1	0,35	0	—
<i>Hymenolepis nana</i>	2	0,41	1	0,35	2	0,46

* Indivíduos atendidos por Unidades Sanitárias da rede estadual.

** Diferenças significativas; $p < 0,05$.

quências mais elevadas de *Entamoeba histolytica* e *Isopora belli* entre os aidéticos e pacientes pertencentes a grupos de risco para infecção por HIV, quando comparados ao grupo controle. E, ao se relacionarem as frequências de infecção por helmintos enteroparasitas, observou-se também índice mais elevado de estrogiloidíase entre o grupo de aidéticos. Resultados comparáveis foram assinalados entre pacientes masculinos com comportamento homossexual, um dos principais grupos de risco para infecção por HIV, em outros países da América e Europa^{6,8,9,10,12,15}. Diferenças com relação ao comportamento epidemiológico da giardíase, revelada

com maior frequência entre homossexuais masculinos nos Estados Unidos da América^{9,15} e, no presente trabalho, com padrões de ocorrência comparáveis nos pacientes aidéticos, no grupo de risco para infecção por HIV e no grupo controle, é possível que sejam consequência do elevado índice de endemicidade dessa protozoose em nosso Estado², fato, todavia, não confirmado entre aidéticos examinados na cidade do Rio de Janeiro³.

Os resultados do presente trabalho mostram, ainda, que *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*, helmintos habitualmente diagnosticados em índices elevados no Estado de São Paulo², foram encontra-

dos com freqüências significativamente mais elevadas entre os indivíduos atendidos nas Unidades Sanitárias pertencentes à rede de atenção primária à saúde, provavelmente em consequência desses pacientes pertencerem, em sua maioria, a estratos sociais diferentes daqueles em que se situam, em nos-

so meio, a maior parte dos pacientes aidéticos e os principais grupos de risco para infecção por HIV, uma vez que o atendimento nas Unidades Sanitárias atinge especialmente a população de baixa renda e residente na periferia do município.

RIALA6/645

DIAS, R.M.D.S.; PINTO, W.P.; CHIEFFI, P.P.; MANGINI, A.C.S.; TORRES, D. M.A.G.V.; DEL BIANCO, R. & FERRARI, L. — Intestinal parasitic infections among patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):63-67, 1988.

ABSTRACT: During the period from February, 1984 to April, 1987, 771 stool samples from AIDS patients and individuals belonging to risk groups for HIV infection were examined, in the Enteroparasitosis Section of Adolfo Lutz Institute, in São Paulo, Brazil. As control group, 432 stool samples from patients who demanded primary medical care in Health Centers, in the same period, were used. The results showed high prevalence of infection with *Cryptosporidium* sp., *Entamoeba histolytica* and *Isospora belli* among AIDS patients and the individuals belonging to risk groups for HIV infection. *Strongyloides stercoralis* larvae were, also, significantly more frequent in stool samples from AIDS patients, when compared to control group, not infected with HIV.

DESCRIPTORS: acquired immunodeficiency syndrome (AIDS), São Paulo, SP, Brazil; intestinal diseases, parasitic, in acquired immunodeficiency syndrome, São Paulo, SP, Brazil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRONSDON, M.A. — Rapid dimethyl sulfoxide-modified acid-fast stain of *Cryptosporidium* oocysts in stool specimens. *J. clin. Microbiol.*, 19:952-953, 1984.
2. CHIEFFI, P.P.; WALDMAN, E.A.; WALDMAN, C.C.S.; SAKATA, E.E.; GERBI, L.J.; ROCHA, A.B. & AGUIAR, P.R. — Aspectos epidemiológicos das enteroparasitoses no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Paul. Med.*, 99:34-36, 1982.
3. COURA, J.R. — Parasitoses nos portadores de AIDS. *J. Bras. Med.*, 53:42-54, 1987.
4. DIAS, R.M.D.S.; MANGINI, A.C.S.; TORRES, D.M.A.G.V.; CORRÊA, M.O.A.; LUPETTI, N.; CORRÊA, F.M.A. & CHIEFFI, P.P. — Cryptosporidiosis among patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) in the county of São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 30(4):310-312, 1988.
5. DIETZMAN, D.E.; HARNISCH, J.P.; RAY, G.; RUSSELL, A.E. & HOLMES, K.K. — Hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to HBsAg. Prevalence in homosexual and heterosexual men. *JAMA*, 238:2625-2626, 1977.
6. HAKANSON, C.; THOREN, K.; NORKRANS, G. & JOHANNISSON, G. — Intestinal parasitic infection and other sexually transmitted diseases in asymptomatic homosexual men. *Scand. J. Infect. Dis.*, 16:199-202, 1984.
7. HENRY, M.C.; DE CLERCQ, D.; LOKOMBE, B.; KAYEMBE, K.; KAPITA, B.; MAMBA, K.; MBEMDI, N. & MAZEBO, P. — Parasitological observations of chronic diarrhoea in suspected AIDS adult patients in Kinshasa (Zaire). *Trans. Roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 80:309-310, 1986.
8. JUDSON, F.N.; PENLEY, K.A.; ROBINSON, M.E. & SMITH, J.K. — Comparative prevalence rates of sexually transmitted diseases in heterosexual and homosexual men. *Amer. J. Epidemiol.*, 112:836-843, 1980.
9. KEAN, B.H.; WILLIAM, D.C. & LUMINAIS, S.K. — Epidemic of amoebiasis and giardiasis in a biased population. *Brit. J. Vener. Dis.*, 55:375-378, 1978.
10. KEYSTONE, J.S.; KEYSTONE, D.L. & PROCTOR, E.M. — Intestinal parasitic infections in men: prevalence, symptoms and factors in transmission. *Can. Med. Assoc. J.*, 123:512-514, 1980.
11. MALEBRANCHE, R.; ANOUX, E.; GUÉRIN, J.M.; PIERRE, G.D.; LAROCHE, A.C.; PÉAN-GUICHARD, C.; ELIE, R.; MORISSET, P.H.; SPIRA, T.; MANDEVILLE, R.; DROT-MAN, P.; SEEMAYER, T. & DUPUY, J.M. — Acquired immunodeficiency syndrome with severe gastrointestinal manifestations in Haiti. *Lancet*, 2:873-877, 1983.

DIAS, R.M.D.S.; PINTO, W.P.; CHIEFFI, P.P.; MANGINI, A.C.S.; TORRES, D.M.A.G.V.; DEL BIANCO, R. & FERRARI, L. — Enteroparasitoses em pacientes acometidos pela síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS/SIDA). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):63-67, 1988.

12. MARKELL, E.K.; HAVENS, R.F.; KURITSUBO, R.A. & WINGERD, J. — Intestinal protozoa in homosexual men of the San Francisco Bay area: prevalence and correlates of infection. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 33:239-245, 1984.
13. MINISTÉRIO DA SAÚDE, Secretaria Nacional de Ações Básicas de Saúde. *Recomendações para Prevenção e Controle da Infecção pelo Vírus HIV (SIDA-AIDS)*. Brasília, Centro de Documentação do Ministério da Saúde, 1987.
14. PHILLIPS, S.C.; MILDUAN, D.; WILLIAM, D.C.; GELB, A.M. & WHITE, M.C. — Sexual transmission of enteric protozoa and helminths in a venereal-disease-clinic. *New Engl. J. Med.*, 305:603-606, 1981.
15. SCHMERIN, M.J.; JONES, T.C. & KLEIN, H. — Giardiasis: association with homosexuality. *Ann. Int. Med.*, 88:801-803, 1978.
16. WHITESIDE, M.E.; BARKIN, J.S.; MAY, R.G.; WEISS, S.D.; FISCHL, M.A. & MAC LEOD, C.L. — Enteric coccidiosis among patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 33:1065-1072, 1984.

Recebido para publicação em 7 de junho de 1988.

AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICAS DE EXTRATO E PURÊ DE TOMATE E DE *CATCHUP**

Marlene Correia dos SANTOS**
Claydes de Quadros ZAMBONI**

RIALA6/646

SANTOS, M.C. & ZAMBONI, C.Q. — Avaliação microscópica das condições higiênicas de extrato e purê de tomate e de *catchup*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):69-73, 1988.

RESUMO: Foram analisadas 152 amostras de extrato de tomate, purê de tomate e *catchup*, para averiguar sua qualidade, através da pesquisa de sujidades pelo método de extração em frasco de Wildman. As sujidades encontradas foram: fragmentos de insetos, fragmentos de larvas, larvas, ovos e nematóides. Concluiu-se que a maior percentagem de contaminação ocorreu em amostras que apresentavam somente fragmentos de insetos, com 61,2% para extratos de tomate, 58,1% para purês de tomate e 61,8% para *catchups*. Os resultados obtidos sugerem a necessidade de modificação na legislação brasileira, estabelecendo limite de tolerância para fragmentos de insetos, e maior controle de qualidade, por parte das indústrias, dos produtos à base de tomate.

DESCRIPTORIOS: tomate; extrato de tomate; purê de tomate; *catchup*; impurezas, detecção microscópica.

INTRODUÇÃO

A industrialização do tomate vem crescendo consideravelmente nos últimos anos. Em 1978, a produção nacional de tomate foi de 1.450 mil toneladas, das quais 9.250 foram exportadas⁴ e 31% destinou-se à industrialização⁵.

O tomate apresenta boa resistência ao ataque de pragas durante seu transporte do campo à indústria, e baixa perecibilidade em relação a outros produtos hortícolas. Apesar disso, o fruto está sujeito, desde o plantio até a colheita, à contaminação por pragas como pulgões, ácaros, moscas brancas, tripses e brocas⁶.

As pragas são particularmente repulsivas, e merecem atenção em decorrência de seu habitat, pois procriam em material fecal ou apodrecido e sobrevivem em animais em decomposição, material vegetal e em alimentos. Tanto as formas adultas como os ovos, as larvas e as pupas, podem ser encontradas em uma grande variedade de matérias alimentícias⁷.

Os tomateiros podem ser contaminados com ovos de insetos, e as larvas que advêm de sua eclosão irão procurar seus frutos para se alimentarem. A larva perfura o tomate e penetra em seu interior, onde permanece até o amadurecimento do fruto. Este procedimento ocasiona a deterioração do tomate, e na maioria das vezes o inseto continua presente. Através do orifício formado pela larva, podem penetrar microrganismos patogênicos que também causarão danos ao fruto⁶. Desta forma, as pragas além de alterar o tomate também facilitam a atuação dos microrganismos.

Além da contaminação no campo, outras podem ocorrer até a elaboração final do produto. No transporte, pode ocorrer contaminação por mau acondicionamento dos frutos ou pela demora em chegar na indústria. Na fase de industrialização pode haver: lavagem precária dos frutos, permanecendo ovos de insetos aderidos ao seu epicarpo; seleção mal feita, deixando passar frutos podres ou infestados; trituração do fruto com moinhos ou peneiras contaminadas por insetos; e armazenamento precário da polpa obtida.

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

A utilização de matéria-prima contaminada resulta num produto com fragmentos de insetos, fragmentos de larvas, larvas e ovos, o que não é permitido pela legislação brasileira, que exige ausência de sujidades e parasitas em produtos industrializados de tomate^{3,7}.

Apesar do amplo consumo dos produtos de tomate pela população de São Paulo, as informações sobre a presença de sujidades e parasitas nesses produtos são escassas^{6,8}.

O presente trabalho tem como objetivo verificar as condições higiênicas de extrato de tomate, purê de tomate e *catchup* comercializados na cidade de São Paulo, através do exame microscópico.

MATERIAL E MÉTODO

Foram analisadas 152 amostras assim distribuídas: 67 extratos de tomate de 13 marcas diferentes, 43 purês de tomate de 9 marcas e 42 *catchups* de 9

TABELA 1

Sujidades em extrato e purê de tomate e em catchup

Sujidades		Extrato		Purê		Catchup	
		nº	(%)	nº	(%)	nº	(%)
Fragmentos de insetos	0	6	(8,9)	0	(0,0)	4	(9,5)
	1 - 10	33	(49,2)	23	(53,5)	27	(64,3)
	11 - 20	19	(28,4)	3	(7,0)	5	(11,8)
	21 - 30	6	(8,9)	4	(9,3)	2	(4,8)
	31 - 40	3	(4,6)	4	(9,3)	2	(4,8)
	41 - 50	0	(0,0)	3	(7,0)	2	(4,8)
	51 ou mais	0	(0,0)	6	(13,9)	0	(0,0)
Total	—	67	(100,0)	43	(100,0)	42	(100,0)
Fragmentos de larvas	0	46	(68,6)	25	(58,1)	35	(83,3)
	1 - 10	21	(31,4)	16	(37,2)	7	(16,7)
	11 ou mais	0	(0,0)	2	(4,9)	0	(0,0)
Total	—	67	(100,0)	43	(100,0)	42	(100,0)
Larvas	0	67	(100,0)	37	(86,0)	40	(95,2)
	1 - 5	0	(0,0)	6	(14,0)	2	(4,8)
Total	—	67	(100,0)	43	(100,0)	42	(100,0)
Ovos	0	66	(98,5)	37	(86,0)	38	(90,5)
	1 - 5	1	(1,5)	6	(14,0)	4	(9,5)
Total	—	67	(100,0)	43	(100,0)	42	(100,0)
Nematóides	0	67	(100,0)	42	(97,7)	39	(92,8)
	1 - 5	0	(0,0)	1	(2,3)	3	(7,2)
Total	—	67	(100,0)	43	(100,0)	42	(100,0)

marcas comerciais. Todas as amostras foram adquiridas em supermercados da cidade de São Paulo durante o ano de 1987. As amostras foram submetidas ao método descrito no "Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists"¹.

Para análise dos produtos, foi utilizado o seguinte material:

frasco armadilha de Wildman, de 2000 ml;
béquer de 250 ml;
placa elétrica;
papel de filtro qualitativo, de filtração média;
equipamento para filtração a vácuo: bomba de vácuo, kitasato e funil de Büchner;
microscópio estereoscópico.

Foram empregados para esta mesma análise, os seguintes reagentes:

óleo mineral;
n-heptano;
água à temperatura de 70°C

A técnica utilizada na elaboração da análise foi a seguinte:

Pesar 200 gramas de purê de tomate ou de *catchup* ou 100 gramas de extrato de tomate em frasco armadilha de Wildman, juntar 20 ml de óleo mineral e agitar bem. Adicionar água quente (70°C) até encher o frasco. Agitar o êmbolo do frasco, ocasionalmente, durante 20 minutos, deixar o líquido em repouso por 10 minutos e extrair o material para um béquer, lavando o gargalo do frasco com n-heptano para remover o óleo aderido em suas paredes e na haste. Completar novamente o volume do frasco

com água quente (70°C), agitar, deixar em repouso por 10 minutos e extrair novamente o material. Filtrar em funil de Büchner com papel de filtro, e examinar ao microscópio estereoscópico com aumento de 20 a 30 vezes.

A sensibilidade do método foi testada através de amostras de extrato de tomate experimentalmente contaminadas com ovos de *Drosophyla* sp.

RESULTADOS

Nas análises das 152 amostras de extratos de tomate, purê de tomate e *catchup* as sujidades encontradas foram: fragmentos de insetos, fragmentos de larvas, larvas, ovos de insetos e nematóides.

As porcentagens de amostras de extrato de tomate, purê de tomate e *catchup* que apresentaram esses contaminantes estão relacionadas na tabela 1, onde foram estipulados intervalos segundo o tipo e número de sujidade presente em cada produto. Esta tabela mostra que um produto contaminado pode apresentar apenas fragmentos de insetos, ou fragmentos de insetos e uma ou mais das outras sujidades.

A tabela 2 apresenta, para cada tipo de produto analisado, o número e a porcentagem de amostras contaminadas, de acordo com os seguintes critérios: 1º) amostras contendo somente fragmentos de insetos; 2º) amostras com fragmentos de insetos e demais sujidades; 3º) amostras isentas de sujidades.

O teste de sensibilidade do método revelou uma recuperação de 96% de asas de *Drosophyla* sp., usadas como sujidade.

TABELA 2

Classificação das amostras de extrato de tomate, purê de tomate e catchup, de acordo com a ausência, presença e tipo de sujidade

Sujidades	Extrato		Purê		Catchup		Total
	nº	(%)	nº	(%)	nº	(%)	(%)
Fragmentos de insetos	41	(61,2)	25	(58,1)	28	(66,7)	(61,8)
Fragmentos de insetos e de larvas, larvas, ovos e nematóides	20	(29,8)	18	(41,9)	10	(23,8)	(31,6)
Ausência	6	(9,0)	0	(0,0)	4	(9,5)	(6,6)
Total	67	(100,0)	43	(100,0)	42	(100,0)	—

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Analisando a tabela 1, observa-se que a percentagem de amostras com ausência de fragmentos de insetos foi menor em relação aos demais tipos de sujidades, indicando que a maior contaminação nos produtos analisados foi por fragmentos de insetos, talvez em razão da maior sensibilidade do método para esse contaminante.

A maior frequência de contaminação ocorreu na faixa de 1 a 10 fragmentos de insetos, com 49,2% para extrato de tomate, 53,5% para purê de tomate e 64,3% para *catchup*. Apenas em purê de tomate obteve-se amostras com contagem acima de 50 fragmentos, isto ocorreu porque duas das nove marcas de purê de tomate (com 6 amostras analisadas) apresentaram alto índice de contaminação, com fragmentos de insetos em número maior que 50, além de fragmentos de larvas, larvas, ovos e nematóides. Não foram encontrados à venda na cidade de São Paulo extrato e *catchup* dessas duas marcas.

No exame do material ao microscópio estereoscópico, foram identificadas cabeças, patas, antenas e asas de insetos, mas 70% dos fragmentos contados estavam bastante reduzidos, dificultando reconhecer a parte do corpo do inseto a que ele pertencia. Esses pequenos fragmentos de várias regiões do corpo do inseto foram identificados através de características que os diferenciam do elemento vegetal, como aspecto de superfície, cor marrom, brilho e presença de finos espinhos, base de setas e setas⁵. A presença de tão pequenos fragmentos de insetos no produto final pode ser consequência do processo de industrialização.

Para fragmentos de larvas, observou-se que a maior frequência de contaminação esteve na faixa de 1 a 10, sendo o purê de tomate (37,2%) o mais contaminado, seguido pelo extrato de tomate (31,4%) e *catchup* (16,7%).

Extrato de tomate, purê de tomate e *catchup*, apresentaram contaminação com larvas, ovos e nematóides, na faixa de 1 a 5, no total de 8 amostras com larvas, 11 amostras com ovos e 4 amostras com nematóides. Observou-se também que as maiores

percentagens de amostras contaminadas com larvas e ovos foram as de purê de tomate e, com nematóides, as de *catchup*.

De acordo com a Tabela 2, verifica-se que para os três tipos de produtos analisados a maior percentagem de amostras (61,8%) continham somente fragmentos de insetos, 31,6% das amostras apresentaram fragmentos de insetos e de larvas, larvas, ovos e nematóides, e apenas 6,6% das 152 amostras analisadas não continham sujidades, estando em condições higiênicas satisfatórias.

Embora não se tenha pesquisado sujidades visando marcas e sim tipos de produtos, foi possível observar que as nove marcas de *catchup* analisadas apresentaram pelo menos um tipo de sujidade, com 4 amostras (Tabela 2) de duas marcas, isentas de sujidades. O mesmo ocorreu para as treze marcas de extrato de tomate, com 6 amostras (Tabela 2) de três marcas, sem sujidades. Para o purê de tomate, as 43 amostras estavam contaminadas (Tabela 2).

Segundo os resultados obtidos, dever-se-ia condenar um grande número de produtos, uma vez que a legislação vigente^{3,7} não apresenta limite de tolerância para fragmentos de insetos.

Sugere-se uma modificação na legislação que atualmente exige ausência de sujidades, estabelecendo-se um limite de tolerância de até 20 fragmentos de insetos em 100 gramas de amostra para extrato de tomate, e até 20 fragmentos de insetos em 200 gramas de amostra para purê de tomate e *catchup*, devendo-se manter a exigência de ausência de sujidades para fragmentos de larvas, larvas, ovos e nematóides.

Com este limite de tolerância, o número de amostras em condições higiênicas satisfatórias passaria de 6,6% para 61,2% de amostras.

Pela alta percentagem de contaminação nos produtos analisados, sugerimos que o método acima descrito seja utilizado com maior frequência pelas indústrias e pelos Laboratórios de Saúde Pública, para averiguar as condições higiênicas dos produtos de tomate.

RIALA6/646

SANTOS, M.C. & ZAMBONI, C.Q. — Tomato paste, tomato puree and *catchup*: microscopic evaluation and sanitary conditions. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):69-73, 1988.

ABSTRACT: Samples of tomato paste, tomato puree and *catchup* were examined for hygienic conditions by microscopy. All samples were tested by using trap flask method. It was found that 61,2% of the tomato paste samples, 58,1% of the puree samples, and 61,8% of the *catchup* samples had unsatisfactory sanitary conditions for insect fragments. It was suggested that the Brazilian Alimentary Codex be modified to tolerate a minimum rate of insect fragments.

DESCRIPTORS: tomato; tomato paste; tomato puree; *catchup*; microscopical filth detection.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS — *Official methods of analysis of the association of official analytical chemists*. 14th ed. Washington, D.C., A.O.A.C., 1984, p.912 (Tecn.44.120).
2. BORTOLETO, E.E. & NENO, L.H. — Aspectos do abastecimento de tomate no Brasil. *Inf. econ. de S. Paulo*, 1, 35-38, 1980.
3. BRASIL, Leis, Decretos, etc. — Resolução n° 12/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos; Diário Oficial, Brasília, 24 jul 1978, Seção II, pt II, p.11505. Aprova as Normas Técnicas Especiais do Estado de São Paulo, revistas pela CNNPA, relativas a alimentos (e bebidas).
4. GIUDICE, M.C. — Aspectos Econômicos da Cultura do Tomateiro, *Inf. Agropecuária*, 6(66):3-4, jun. 1980.
5. HARRIS, K.L. — Identification of insect contaminants of foods by the micro-morphology of the insect fragments. *Association of Official Agricultural Chemists*, 33(3):898-933, 1980.
6. HOWARD, B.J. — Corn ear worm in tomato products. *Food Industry*. 7:321-322, 1935.
7. SÃO PAULO, Leis, Decretos, etc. — Decreto n° 12.486 de 20 de outubro de 1978, Diário Oficial, São Paulo, 21 out 1978, p.16 e 32 (NTA 32, NTA 70). Aprova Normas Técnicas Especiais Relativas a Alimentos e Bebidas.
8. SOUTO, A.B. & GODOY, O. — Investigações sobre produtos de tomate. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 2:100-180, 1942.
9. O TOMATE e sua industrialização. *Mundo Agrícola*. 1(1):109-114, 1975.

Recebido para publicação em 1º de julho de 1988.

ENTEROPARASIToses NO MUNICÍPIO DE GUARULHOS, SP, BRASIL. 1.
PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO ENTRE ESCOLARES RESIDENTES NO BAIRRO DE
TABOÃO, EM JUNHO DE 1984.*

Pedro Paulo CHIEFFI**
Eliseu Alves WALDMAN**
Rosa Maria Donini Souza DIAS**
Domingas Maria A. Grispio Vieira TORRES**
Rubens CHIMARA***
Liria C. MIZUMOTO***
Aline Maria Augusto da SILVA***
Mauro UEHARA***

RIALA6/647

CHIEFFI, P.P.; WALDMAN, E.A.; DIAS, R.M.D.S.; TORRES, D.M.A.G.V.; CHIMARA, R.; MIZUMOTO, L.C.; SILVA, A.M.A. da & UEHARA, M. — Enteroparasitoses no município de Guarulhos, SP, Brasil. 1. Prevalência de infecção entre escolares residentes no bairro de Taboão, em junho de 1984. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):75-80, 1988.

RESUMO: Determinou-se a prevalência de infecção por enteroparasitas em escolares, de ambos os sexos e idade variável entre 6 e 16 anos, matriculados em escolas da rede de ensino estadual, no bairro de Taboão, município de Guarulhos (SP), através do exame parasitológico de fezes de amostra aleatória e estratificada, constituída por 913 escolares. Todas as amostras de fezes foram submetidas à técnica de sedimentação espontânea e, quando diarreicas ou com consistência diminuída, foram também examinadas pelo método direto. Em ambas as técnicas examinaram-se lâminas com e sem coloração por lugol. Os resultados revelaram as seguintes prevalências de infecção por enteroparasitas: *Ascaris lumbricoides*, 40,8%; *Trichuris trichiura*, 31,2%; *Ancylostomidae*, 1,3%; *Strongyloides stercoralis*, 0,4%; *Enterobius vermicularis*, 1,9%; *Schistosoma mansoni*, 0,2%; *Taenia* sp., 0,2%; *Hymenolepis nana*, 3,4%; *Entamoeba histolytica*, 4,4%; *Entamoeba coli*, 17,5%; *Giardia lamblia*, 13,0%; *Iodamoeba bütschlii*, 1,2% e *Endolimax nana*, 14,7%.

DESCRITORES: Enteroparasitoses em escolares, prevalência, Guarulhos, São Paulo, Brasil.

INTRODUÇÃO

Parasitoses intestinais representam importante fator de agravamento à saúde, em muitas áreas do globo terrestre, especialmente para crianças que, com frequência, estão sujeitas a infecções com maiores intensidade e gravidade.

Nas regiões em que a renda é mal distribuída, resultando na existência de extensos segmentos populacionais submetidos a condições precárias de sobrevivência, com conseqüente ingestão insuficiente de proteínas e calorias, a presença de parasitas intestinais pode significar fator agravante na ocorrência de desnutrição, através de depleção por diarreia

* Realizado na Seção de Enteroparasitoses do Serviço de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Da Secretaria de Saúde do Município de Guarulhos, SP.

crônica¹¹ ou competição pelo alimento ingerido^{3,19}. A concomitância de outras infecções intestinais, fato comum nessas circunstâncias, pode representar agravo adicional que reforça a capacidade patogênica de parasitas intestinais⁴.

Em países com elevadas taxas de desenvolvimento e que adotaram mecanismos de ordem política e administrativa que garantem nível adequado de bem-estar social e econômico à população, o papel desempenhado por enteroparasitoses, como agravo à saúde, é pouco importante. Quando, paralelamente ao desenvolvimento econômico, empreenderam-se campanhas específicas de controle de parasitoses intestinais, através do tratamento em massa da população, juntamente com outras medidas de controle¹², verificou-se acentuada queda na frequência de geohelmintos infectando a população. O Japão é, atualmente, o melhor exemplo do sinergismo entre desenvolvimento econômico e ações de promoção à saúde, entre as quais o programa de controle de geohelmintíases pode ser considerado um modelo¹⁵.

No Brasil, a situação epidemiológica das enteroparasitoses não se apresenta de maneira uniforme. Ao lado de extensas áreas onde as frequências de infecção são bastante elevadas²⁰, encontram-se regiões, como algumas localizadas no Estado de São Paulo, onde tem-se notado tendência a queda na parcela de indivíduos infectados por geohelmintos, ao longo dos últimos vinte anos^{5,6}. Tal tendência é particularmente acentuada nas regiões onde o processo de desenvolvimento melhorou as condições de saneamento e abastecimento de água, especialmente algumas situadas na área metropolitana da Grande São Paulo¹⁴. Todavia, a heterogeneidade que caracteriza os modos de ocorrência das enteroparasitoses em nosso país, revela-se também na Região Metropolitana da Grande São Paulo, determinando, em alguns municípios, ocorrência de parasitoses intestinais em níveis bastante elevados, como no caso de Guarulhos, município limítrofe à Capital.

Em razão da importância que parasitoses intestinais têm como fatores de agravo à saúde de escolares no município de Guarulhos, decidiu-se avaliar a possibilidade de controlar a transmissão de geohelmintos, através do tratamento específico em massa de crianças que frequentavam escolas de primeiro grau, localizadas nesse município, no bairro de Taboão. Etapa inicial do trabalho consistiu na determinação da prevalência de infecção por enteroparasitas entre esses escolares, cujos resultados constituem objeto da presente publicação.

MATERIAL E MÉTODOS

A área escolhida para o levantamento parasitológico,

e posterior tratamento em massa de escolares, foi o bairro de Taboão, localizado na periferia do município de Guarulhos, componente da Região Metropolitana da Grande São Paulo.

O bairro do Taboão situa-se a cerca de 10 km do centro urbano de Guarulhos, ao qual está ligado por uma única via de acesso e tem seus limites marcados pelo córrego Taboão. As habitações do bairro, em sua maioria, são precárias, do tipo "embrião". Não há infraestrutura de esgoto na área e apenas cerca de 70% das edificações são servidas por água encanada.

De acordo com projeções do Censo Demográfico, realizado em 1980, estima-se em 34.417 habitantes a população do bairro do Taboão na época do levantamento e em 13.735 o número de crianças com até 14 anos de idade. O número de alunos com idade entre 6 e 15 anos, matriculados nas seis escolas mantidas pelo Estado na área, era 9.167.

Através do processo de amostragem, em junho de 1984, sortearam-se classes nas seis escolas existentes na área, de forma a constituir-se amostra aleatória e estratificada por conglomerado da população escolar, estando representadas as oito séries componentes do primeiro grau. Como mostra a tabela 1, foram sorteadas, ao todo, 31 classes de aula, perfazendo 1.030 alunos matriculados, dos quais 913, com idade variável entre 6 e 16 anos, tiveram suas fezes examinadas. O tamanho calculado para a amostra ser adequadamente representativa do universo escolar da área foi de 800 a 1.000 alunos.

Através de reuniões preliminares obteve-se a colaboração do corpo docente e administrativo das seis escolas para o levantamento e posterior tratamento a ser realizado. Por intermédio das professoras das classes sorteadas, foram distribuídos recipientes adequados para a coleta de fezes aos alunos, devidamente identificados e, em data agendada, procedeu-se ao recolhimento das amostras, imediatamente encaminhadas à Seção de Enteroparasitoses do Instituto Adolfo Lutz.

Todas as amostras de fezes encaminhadas ao laboratório foram examinadas através da técnica de sedimentação espontânea; quando diarréicas ou com consistência diminuída, realizou-se também exame pelo método direto. Ambas as técnicas foram examinadas com e sem coloração pelo lugol.

RESULTADOS

A tabela 2 sumariza as prevalências de infecção por helmintos e protozoários enteroparasitas nas 913 amostras examinadas.

CHIEFFI, P.P.; WALDMAN, E.A.; DIAS, R.M.D.S.; TORRES, D.M.A.G.V.; CHIMARA, R.; MIZUMOTO, L.C.; SILVA, A.M.A. da & UEHARA, M. — Enteroparasitoses no município de Guarulhos, SP, Brasil. 1. Prevalência de infecção entre escolares residentes no bairro de Taboão, em junho de 1984. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):75-80, 1988.

TABELA 1

Distribuição dos 913 escolares submetidos a exames parasitológicos de fezes, conforme escolas do bairro de Taboão, Guarulhos, SP, junho de 1984.

Escolas	Nº classes sorteadas	Nº alunos matriculados	Nº alunos examinados
Prof. Plínio P. Braga	5	175	175
Profa. Maria A. Soave	8	253	230
Profa. Flávia X. Arantes	4	138	115
Jardim Belvedere	6	205	153
Prof. Milton Cernach	6	200	190
Prefeito Rinaldo Poli	2	59	50
Total	31	1.030	913

TABELA 2

Prevalência (%), por faixa etária, de infecção por enteroparasitas em escolares do bairro do Taboão, município de Guarulhos, SP, junho de 1984.

Enteroparasitas	Prevalência (%) por faixa etária		
	6 – 10 anos	11 e + anos	Total
<i>Ascaris lumbricoides</i>	41,1	40,6	40,8
<i>Trichuris trichiura</i>	35,3	26,2	31,2
Ancylostomidae	0,8	1,9	1,3
<i>Strongyloides stercoralis</i>	0,6	0,2	0,4
<i>Enterobius vermicularis</i>	2,6	1,0	1,9
<i>Schistosoma mansoni</i>	–	0,2	0,2
<i>Taenia</i> sp.	–	0,2	0,2
<i>Hymenolepis nana</i>	2,8	4,2	3,4
<i>Entamoeba histolytica</i>	4,8	3,4	4,4
<i>Entamoeba coli</i>	17,3	17,8	17,5
<i>Giardia lamblia</i>	16,7	8,6	13,0
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	1,0	1,5	1,2
<i>Endolimax nana</i>	16,7	12,2	14,7
Total de examinados	504	409	913

DISCUSSÃO

Em diversas ocasiões, ao longo das últimas décadas, procurou-se estudar a freqüência de infecção por enteroparasitas, juntamente com outros aspectos epidemiológicos, em segmentos da população residente no Estado de São Paulo^{5,6,7,8,9,10,13,14,16,18}. São raros, entretanto, trabalhos que avaliem o comportamento epidemiológico de parasitoses intestinais em amostras representativas da população. Constituem, assim, exceções os trabalhos de NUSSENZVEIG et alii¹⁶ e MONTEIRO et alii¹⁴.

No primeiro desses trabalhos, NUSSENZVEIG et alii¹⁶, no início da década de 80, estudaram amostra representativa dos escolares matriculados em escolas mantidas pela Prefeitura do Município de São Paulo, restringindo-se, todavia, aos alunos que estavam ingressando na primeira série do primeiro grau, atingindo, conseqüentemente, crianças com 7 anos de idade. No segundo trabalho, MONTEIRO et alii¹⁴ analisaram a importância de parasitoses intestinais em amostra aleatória e estratificada de crianças, na faixa etária de 0 a 59 meses, residentes no município de São Paulo.

Merecem, ainda, menção especial os trabalhos publicados por CORRÊA et alii⁹, em 1954, CHIEFFI et alii⁶, em 1982, e CHIEFFI⁵, em 1986, que, embora não analisem amostras probabilísticas da população, realizaram número suficientemente grande de exames, fato que permite obter idéia aproximada da dimensão que o problema das enteroparasitoses assume nos segmentos populacionais examinados.

Pela razões expostas, aumenta o interesse em relação aos dados do presente trabalho, uma vez que dadas as características da amostra examinada e os cuidados tomados em sua escolha, os resultados obtidos expressam, àquela data, o comportamento epidemiológico de enteroparasitas para o segmento de crianças e jovens, com idade entre 6 e 15 anos, residentes em Guarulhos, município integrante da Região Metropolitana da Grande São Paulo.

Os resultados, reproduzidos na tabela 2, indicam elevados índices de prevalência de enteroparasitoses entre os escolares de Guarulhos, com destaque para infecções por *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e *Giardia lamblia*, que representam as espécies mais frequentes em nosso meio^{6,7,14}.

Quando esses resultados são cotejados aos índices de parasitismo revelados nas amostras habitualmente examinadas pelo Instituto Adolfo Lutz^{5,6}, nota-se semelhança entre as frequências de giardíase e níveis mais elevados de parasitismo por *A. lumbricoides* e *T. trichiura* entre os escolares de Guarulhos. É necessário ressaltar, entretanto, que os índices de parasitismo por esses helmintos encontrados nas publicações de CHIEFFI et alii⁶ e CHIEFFI⁵, referem-se a exames realizados na Seção de Enteroparasitoses do Instituto Adolfo Lutz, computados na maioria das vezes, sem levar em consideração a faixa etária dos examinados.

As prevalências de ascaridíase e tricuriíase reveladas entre os escolares de Guarulhos aproximam-se, por outro lado, dos índices verificados por NUSSENZVEIG et alii¹⁶ entre escolares, com 7 anos de idade, do município de São Paulo e das frequências encontradas em regiões do interior do Estado, em outros levantamentos^{8,18}.

É interessante, ainda, chamar atenção para o fato de que os dados do presente trabalho coincidem com os obtidos por CORRÊA & TAUNAY¹⁰, em 1943, para a frequência de parasitismo por *Ascaris lumbricoides*, entre crianças com 7 a 14 anos, residentes no município de São Paulo. Entretanto, notam-se significativas diferenças entre as frequências de infecção por Ancilostomídeos e *T. trichiura*, encontrados por esses autores¹⁰ em, respectivamente,

33% e 78% das amostras examinadas. Destaca-se, especialmente, nessa comparação a queda na prevalência de infecção por Ancilostomídeos, situação verificada em apenas 1,3% das amostras examinadas em Guarulhos, corroborando dados que vêm indicando tendência à queda na frequência de infecção por Ancilostomídeos no Estado de São Paulo^{5,6}, nas últimas décadas, provavelmente em consequência de processo de urbanização e melhoria nas condições gerais de vida da população. Situação semelhante foi assinalada na Venezuela, após o início da exploração petrolífera².

Merece destaque, ainda, a prevalência de infecção por *Entamoeba histolytica* observada entre escolares de Guarulhos. Revelada em 4,4% das amostras examinadas a presença deste protozoário, ao lado da elevada prevalência de infecção por *Giardia lamblia* (13%), representa importante fonte potencial de agravos à saúde dessas crianças. Convém destacar que, embora a frequência de giardíase no presente trabalho se assemelhe à habitualmente verificada na área da Grande São Paulo e, particularmente, à diagnosticada para a mesma faixa etária entre crianças residentes em São Caetano do Sul⁶, a prevalência de amebíase obtida em Guarulhos superou a encontrada nesses mesmos locais, fato que os dados de NUSSENZVEIG et alii¹⁶, no Município de São Paulo corroboram. Tal situação, juntamente com as prevalências elevadas de infecção por *A. lumbricoides* e *T. trichiura*, provavelmente se deve às más condições de saneamento que caracterizam o município de Guarulhos e, particularmente, nesse município, o bairro de Taboão.

Analisando a tabela 2 verifica-se inexistência de variações na prevalência de *A. lumbricoides*, conforme a faixa etária das crianças examinadas. A mesma situação não se repete com relação às prevalências de infecção por *T. trichiura* e *G. lamblia*. Especialmente nesse último caso, observou-se nítido decréscimo na prevalência com a elevação da faixa etária. Tais resultados reproduzem, a grosso modo, os padrões de infecção encontrados em outros municípios da Região Metropolitana da Grande São Paulo⁶.

Com relação a *E. histolytica* encontrou-se índice de prevalência mais elevado no grupo de crianças com idade variável entre 6 e 10 anos, ao contrário do que costuma ser assinalado na literatura^{1,6,17}.

Finalmente, merece referência a inexistência de casos de infecção por *Schistosoma mansoni* entre as crianças menores, fato que, juntamente com a taxa pouco significativa encontrada no grupo com mais de 10 anos de idade, sugere possibilidade remota de ocorrência de transmissão autóctone dessa endemia, na área examinada.

CHIEFFI, P.P.; WALDMAN, E.A.; DIAS, R.M.D.S.; TORRES, D.M.A.G.V.; CHIMARA, R.; MIZUMOTO, L.C.; SILVA, A.M.A. & UEHARA, M. — Intestinal parasitic infection in the municipality of Guarulhos, São Paulo State, Brazil. I. Prevalence of infection among schoolchildren in Taboão district, June 1984. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):75-80, 1988.

ABSTRACT: The prevalence of infection by intestinal parasites among schoolchildren, aged 6 to 16 years old, and living in Taboão district, Guarulhos municipality (São Paulo State, Brazil) was determined, by stool examination of random and stratified sample of 913 individuals. All faecal samples were examined by spontaneous sedimentation technique and, when diarrheic, also by the direct smear method, with and without the use of iodine staining. The following prevalence rates of parasitic infection were found: *Ascaris lumbricoides*, 40.8%; *Trichuris trichiura*, 31.2%; Ancylostomidae, 1.3%; *Strongyloides stercoralis*, 0.4%; *Enterobius vermicularis*, 1.9%; *Schistosoma mansoni*, 0.2%; *Taenia* sp., 0.2%; *Hymenolepis nana*, 3.4%; *Entamoeba histolytica*, 4.4%; *Entamoeba coli*, 17.5%; *Giardia lamblia*, 13.0%; *Iodamoeba bütschlii*, 1.2% and *Endolimax nana*, 14.7%.

DESCRIPTORS: intestinal diseases, parasitic, in school children, prevalence, Guarulhos, São Paulo, Brazil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDEL-HAFEZ, M.M.A.; EL-KADY, N.; BOL-BOL, A.S. & BAKNINA, M.H. — Prevalence of intestinal parasitic infections in Riyadh district, Saudi Arabia. *Ann. trop. Med. Parasitol.*, 80:631-634, 1986.
2. BENARROCH, E.J. — *Las helmintiasis intestinales como problema de salud pública*. Ministério de Sanidad y Asistencia Social, Caracas. Tipografía Principios, 1966.
3. BLUMENTHAL, D.S. & SCHULTZ, M.C. — Effects of *Ascaris* infection on nutritional status in children. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 25:682-690, 1976.
4. CHIEFFI, P.P. — Mecanismos de infecção e doença nas geohelmintiasis. *Arq. Méd. Hosp. Fac. Ciênc. Méd. Santa Casa São Paulo*, 4:12-14, 1984.
5. CHIEFFI, P.P. — Aspectos epidemiológicos das geohelmintiasis no Estado de São Paulo. *Arq. Méd. Hosp. Fac. Ciênc. Méd. Santa Casa São Paulo*, 6:61-64, 1986.
6. CHIEFFI, P.P.; WALDMAN, E.A.; WALDMAN, C.C.S.; SAKATA, E.E.; GERBI, L.J.; ROCHA, A.B. & AGUIAR, P.R. — Aspectos epidemiológicos das enteroparasitoses no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. paul. Med.*, 99:34-36, 1982.
7. CIMERMAN, B. — Contribuição para o estudo do controle da ascariíase humana através de quimioterápico. *Folha méd.* (BR), 89:431-437, 1984.
8. CINTRA, J.F. & RUGAI, E. — Helmintiasis entre escolares da cidade de Bauru. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 15:155-157, 1955.
9. CORRÊA, M.O.A.; FLEURY, G.C.; DUARTE, Y.N. & BUENO, R.A. — Considerações sobre alguns aspectos das helmintiasis em nosso meio escolar. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 14:27-32, 1954.
10. CORRÊA, M.O.A. & TAUNAY, A.E. — Incidência das verminoses e protozooses nos escolares da Capital. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 3:247-260, 1943.
11. GUPTA, M.C. — Intestinal parasitic infections and malnutrition. *Ind. J. Pediat.* 47:503-509, 1980.
12. KOBAYASHI, A. — Theory and practice applied in Japan for the eradication of *Ascaris lumbricoides*. In: APCO Research Group — *Collected papers on the control of soil-transmitted helminthiasis*. Tokyo, Asian Parasite Control Organization, vol. 1, 1980.
13. MELLO, D.A.; PRIPAS, S.; FUCCI, M.; SANTORO, M.C. & PEDRAZZANI, E.S. — Helmintoses intestinais. I. Conhecimentos, atitudes e percepção da população. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 22:140-149, 1988.
14. MONTEIRO, C.A.; CHIEFFI, P.P.; BENÍCIO, M.H.A.; DIAS, R.M.D.S.; TORRES, D.M.A.G.V.; & MANGINI, A.C.S. — Estudo das condições de saúde das crianças do município de São Paulo (Brasil), 1984/1985. VII. Parasitoses intestinais. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 22:8-15, 1988.
15. MORISHITA, K. — Present situation of parasitic infection in Japan and activity of the Japan Association of Parasite Control. In: APCO Research Group — *Collected papers on the control of soil-transmitted helminthiasis*. Tokyo, Asian Parasite Control Organization, vol. 1, 1980.
16. NUSSENZVEIG, I.; NATALE, A.; MALHEIRO, M.E.N. & MALACO, M.M.L. — Prevalência de anemia e de parasitoses intestinais em escolares do município de São Paulo. Resultado do emprego da merenda escolar e de drogas antiparasitárias. *Rev. paul. Med.*, 100:32-39, 1982.

CHIEFFI, P.P.; WALDMAN, E.A.; DIAS, R.M.D.S.; TORRES, D.M.A.G.V.; CHIMARA, R.; MIZUMOTO, L.C.; SILVA, A.M.A. da & UEHARA, M. — Enteroparasitoses no município de Guarulhos, SP, Brasil. I. Prevalência de infecção entre escolares residentes no bairro de Taboão, em junho de 1984. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **48**(1/2):75-80, 1988.

17. OYERINDE, J.P.O.; OGUNBI, O. & ALONGE, A.A. — Age and sex distribution of infection with *Entamoeba histolytica* and *Giardia intestinalis* in the Lagos population. *Int. J. Epidemiol.*, **6**:231-234, 1977.
18. PESSOA, S.B. & PASCALE, H. — Sobre a intensidade e prevalência do *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura* em algumas zonas do Estado de São Paulo. *São Paulo Méd.*, **1**:93-201, 1938.
19. TRIPATEY, K.; GONZALEZ, F.; LOTERO, H. & BOLAÑOS, O. — Effects of *Ascaris* on human nutrition. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, **20**:212-218, 1972.
20. VINHA, C. — Incidência no Brasil de helmintos transmitidos pelo solo. Rotina coproscópica do Ex-Departamento Nacional de Endemias Rurais. *Rev. brasil. malariol. Doenças trop.*, **23**:3-17, 1971.

Recebido para publicação em 5 de julho de 1988.

OCORRÊNCIA DE AFLATOXINA B₁ EM PRODUTOS ALIMENTÍCIOS E RAÇÕES ANIMAIS, CONSUMIDOS NO ESTADO DE SÃO PAULO E EM VÁRIAS OUTRAS REGIÕES DO BRASIL, NO PERÍODO DE 1980 A 1987*

Myrna SABINO**
Leda C.A. LAMARDO**
Emiko I. INOMATA**
Alice H. ICHIKAWA**
Cláudia M.P. GIANNATTASIO**

RIALA6/648

SABINO, M.; LAMARDO, L.C.A.; INOMATA, E.I.; ICHIKAWA, A.H. & GIANNATTASIO, C.M.P. — Ocorrência de aflatoxina B₁ em produtos alimentícios e rações animais, consumidos no Estado de São Paulo e em várias outras regiões do Brasil, no período de 1980 a 1987. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):81-85, 1988.

RESUMO: Aflatoxina B₁ foi identificada e quantificada por cromatografia em camada delgada em 666 amostras de produtos alimentícios e 308 amostras de rações animais expostas ao consumo no Estado de São Paulo e em várias outras regiões do Brasil. Foi detectada aflatoxina B₁ em 3,39% do total das amostras analisadas, com concentração superior a 30 µg/Kg (ppb), que é o limite tolerado pela legislação brasileira. Os resultados foram expressos em tabelas.

DESCRITORES: aflatoxina B₁; determinação em produtos alimentícios e rações animais; produtos alimentícios, determinação de aflatoxina B₁; rações animais, determinação de aflatoxina B₁; cromatografia em camada delgada.

INTRODUÇÃO

A partir do momento em que a aflatoxina B₁ foi constatada como a causa da doença animal conhecida por "Turkey X", responsável pela morte de peruzinhos na Inglaterra, em 1960, formou-se uma verdadeira frente de especulação científica em torno do problema das micotoxinas.

Em geral, as aflatoxinas são produzidas pelos fungos *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, mas também podem ser produzidas por outros fungos relacionados com a deterioração de alimentos e rações. Além da B₁, as aflatoxinas B₂, G₁ e G₂ já foram encontradas em vários tipos de cereais e produtos alimentícios³.

Segundo a literatura, a aflatoxina B₁ é considerada como um dos mais poderosos hepatotóxicos e um potente carcinogênico químico^{5,6,7,8}.

Foi constatada alta incidência de hepatoma humano em zonas tropicais do Kênia, Moçambique, Suazilândia e Tailândia, onde os habitantes estão expostos à ingestão regular de alimentos contaminados⁹. Por outro lado, a diminuição de carcinoma hepatocelular entre os mineiros de ouro da África do Sul¹ e entre a população da província de Inhambane, Moçambique¹⁸, foi relacionada com a redução do consumo de alimentos contaminados por micotoxinas.

O Brasil, devido a seu clima tropical, propicia condições ideais para a proliferação dos fungos responsáveis pela produção das aflatoxinas^{10,15}. Além disso, sendo um país em desenvolvimento, as condições inadequadas de plantio, colheita, secagem, transporte e armazenamento de produtos agrícolas, favorecem a contaminação por fungos toxicogênicos⁴.

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

O Instituto Adolfo Lutz, vigilante em preservar a saúde da coletividade e também como sede do Centro Colaborador do Programa Conjunto FAO/OMS para "monitoramento" de contaminantes em alimentos e rações, controla periodicamente a variação dos níveis de aflatoxinas em alimentos^{11,12,13,14}.

Considerando a necessidade de dados sistemáticos para avaliar o índice de contaminação e, conseqüentemente, a sanidade dos alimentos e rações, propusemos estudo para verificar a ocorrência de aflatoxina B₁ em produtos consumidos no Estado de São Paulo e em outras regiões, no período de 1980 a 1987, como subsídio às autoridades governamentais.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizadas 666 amostras de tipos variados de alimentos: leite em pó, biscoito de chocolate, café, castanha de caju, castanha do Pará, farinha de mandioca, farinha de trigo, germe de trigo, farinha de rosca, pimenta do reino, avelã, guaraná, coco ralado, nozes, banana desidratada, arroz, aveia, feijão, milho e soja e 308 amostras de rações animais para a determinação de aflatoxina B₁, perfazendo um total de 974 amostras.

As amostras analisadas foram colhidas no comércio e em indústrias alimentícias pelo Serviço de Fiscalização da Divisão de Alimentação Pública, atualmente Centro de Vigilância Sanitária da Secretaria de Estado da Saúde, e enviadas ao Instituto Adolfo Lutz para análise fiscal. Além disso, outras amostras foram remetidas por empresas para análise de orientação, no período de 1980 a 1987.

O método empregado para análise foi o descrito nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz¹⁶. A identificação e quantificação das aflatoxinas foram feitas por cromatografia em camada delgada. Utilizou-se para desenvolvimento do cromatograma as seguintes fases móveis: benzeno-acetato de etila-etanol(60:38:2) e clorofórmio-acetona(90:10), conforme o tipo de amostra analisada. A quantificação foi efetuada pelo método da comparação visual da intensidade de fluorescência da amostra com a do padrão¹⁷.

RESULTADOS

As tabelas 1, 2 e 3 demonstram a ocorrência de aflatoxina B₁ nas amostras analisadas.

Os teores de aflatoxina B₁ foram expressos em µg/kg(ppb), e o não aparecimento de fluorescên-

TABELA 1

Níveis de aflatoxina B₁ em produtos alimentícios, no período de 1980 a 1987

Ano	nº total amostras	nº amostras N.D.*	nº amostras > 30 µg/kg	nº amostras < 30 µg/kg	Média das amostras positivas µg/kg	Variação	
						Mínimo µg/kg	Máximo µg/kg
1980	38	28	4	6	28,5	8,0	50,0
1981	48	43	—	5	8,0	8,0	8,0
1982	39	39	—	—	—	—	—
1983	48	48	—	—	—	—	—
1984	239	231	4	4	671,3	8,0	3200,0
1985	91	85	—	6	8,0	8,0	8,0
1986	105	103	—	2	8,0	8,0	8,0
1987	58	55	1	2	26,5	11,0	33,0
Total	666	632	9	25			

* N.D.— não aparecimento de fluorescência no cromatograma.
Limite de detecção do método: 8,0 µg/kg.

SABINO, M.; LAMARDO, L.C.A.; INOMATA, E.I.; ICHIKAWA, A.H. & GIANNATTASIO, C.M.P. — Ocorrência de aflatoxina B₁ em produtos alimentícios e rações animais, consumidos no Estado de São Paulo e em várias outras regiões do Brasil, no período de 1980 a 1987. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):81-85, 1988.

TABELA 2

Níveis de aflatoxina B₁ em rações animais, no período de 1980 a 1987

Ano	nº total amostras	nº amostras N.D.*	nº amostras > 30 µg/kg	nº amostras < 30 µg/kg	Média das amostras µg/kg	Variação	
						Mínimo µg/kg	Máximo µg/kg
1980	7	7	—	—	—	—	—
1981	10	9	—	1	8	8	8
1982	23	21	2	—	33,5	32,0	35,0
1983	36	28	8	—	433,8	50,0	720,0
1984	81	72	6	3	131,0	8,0	530,0
1985	62	57	5	—	183,4	139,0	213,0
1986	37	35	1	1	24,0	8,0	40,0
1987	52	47	2	3	43,4	11,0	107,0
Total	308	276	24	8			

* N.D. = não aparecimento de fluorescência no cromatograma.
Limite de detecção do método: 8,0 µg/kg.

TABELA 3

Valores de aflatoxina B₁ em produtos alimentícios e rações animais, no período de 1980 a 1987

Amostras analisadas								
Tipo	nº	Aflatoxina B ₁ N.D.*		Aflatoxina B ₁ < 30 µg/kg		Aflatoxina B ₁ > 30 µg/kg**		Média das amostras positivas (acima de 30 µg/kg)
		nº	%	nº	%	nº	%	
Produtos Alimentícios	666	632	94,89	25	3,75	9	1,35	617,0
Rações animais	308	276	89,61	8	2,60	24	7,79	241,2
Total	974	908	93,22	33	3,39	33	3,39	343,7

* N.D. = não aparecimento de fluorescência no cromatograma.

** A legislação brasileira fixou a tolerância de 30 µg/kg (ppb) para as aflatoxinas calculada pela soma dos conteúdos das aflatoxinas B₁ e G₁.

cia no cromatograma foi representado pela abreviatura N.D. (não detectada).

DISCUSSÃO

Observa-se na tabela 3 que foi detectada aflatoxina B₁ em 3,38% das 974 amostras analisadas, numa concentração superior a 30 µg/kg; sendo o teor médio, de 343,7 µg/kg, muito superior ao limite tolerado pela legislação brasileira².

De acordo com a tabela 1, onde se resume a análise de 666 amostras de produtos alimentícios, 9 amostras apresentaram-se contaminadas. O nível máximo de aflatoxina B₁ detectado foi 3200 µg/kg em uma amostra de milho procedente da região Sul do país, provando mais uma vez que alguns produtos são mais suscetíveis do que outros à contaminação por aflatoxinas.

A tabela 2 mostra os níveis de aflatoxina B₁ em 308 amostras de rações animais, onde estão incluídas as tortas e os farelos.

Foi detectada aflatoxina B₁, acima de 30 µg/kg, em 7,79% das amostras analisadas. A média dos teores de contaminação destas amostras foi de 241,2 µg/kg (tabela 3).

Em 1980, SABINO¹⁴ reportou a variação dos níveis de aflatoxina B₁ em alimentos e rações animais no período de 1971 a 1979. Comparando os resultados obtidos, observamos uma concordância nos níveis de contaminação por aflatoxina B₁, variando de ano para ano. Apesar de ter encontrado aflatoxina B₁ numa porcentagem relativamente baixa de amostras analisadas, o teor médio de 343,7 µg/kg está muito acima da tolerância máxima fixada pela legislação brasileira, o que é motivo de grande preocupação para a saúde coletiva.

CONCLUSÃO

É necessário manter um controle contínuo e sistemático sobre as condições higiênicas das matérias primas utilizadas na fabricação de alimentos e rações, evitando a industrialização com material contaminado.

Devemos alertar e conscientizar os órgãos governamentais sobre os efeitos tóxicos causados pela ingestão de produtos contaminados por micotoxinas, para assegurar a saúde da população. Só o levantamento de dados analíticos poderá prevenir problemas que, não se manifestando de imediato, poderão ser irreparáveis.

RIALA6/648

SABINO, M.; LAMARDO, L.C.A.; INOMATA, E.I.; ICHIKAWA, A.H. & GIANNATTASIO, C.M.P. — Incidence of aflatoxin B₁ in foodstuffs and animal feeds, consumed in São Paulo and in various areas of Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):81-85, 1988.

ABSTRACT: Thin-layer chromatography was employed to determine the amount of aflatoxin B₁ in 666 samples of foodstuffs and 308 samples of animal feeds exposed for consumption in São Paulo State and in various areas of Brazil. In 3,39% of the 974 analysed samples, aflatoxin B₁ were detected in concentration higher than those tolerated by pertinent Brazilian legislation. The results were showed in tables.

DESCRIPTORS: aflatoxin B₁; determination in foodstuffs and animal feeds; foodstuffs, determination of aflatoxin B₁; animal feeds, determination of aflatoxin B₁; thin-layer chromatography.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRADSHAW, E.; Mc GLASHAN, N.D.; FITZ GERALD, D. & HARRINGTON, J.S. — Analyses of cancer incidence in black gold miners from Southern Africa (1964-79). *Br. J. Cancer*, 46:737-748, 1982.
- BRASIL. Leis, decretos, etc. — Resolução nº 34/76. da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. *Diário Oficial*, Brasília, 19 jan. 1977. Seção I, pt. I, p. 710. Fixa padrões de tolerância para as aflatoxinas em alimentos.
- DETROY, R.W.; LILLEHOJ, E.B. & CIEGLER, A. apud LIN, M.T. — Biologia dos fungos toxicogênicos. In: ENCONTRO NACIONAL DE MICOTOXINAS: PROBLEMAS E SOLUÇÕES. São Paulo, 1980. *Anais*. São Paulo, 1980. p.11-22.
- FONSECA, H. — Prevenção e controle da produção de micotoxinas. In: ENCONTRO NACIONAL DE MICOTOXINAS: PROBLEMAS E SOLUÇÕES. São Paulo, 1980. *Anais*. São Paulo, 1980. p. 54-58.

SABINO, M.; LAMARDO, L.C.A.; INOMATA, E.I.; ICHIKAWA, A.H. & GIANNATTASIO, C.M.P. — Ocorrência de aflatoxina B₁ em produtos alimentícios e rações animais, consumidos no Estado de São Paulo e em várias outras regiões do Brasil, no período de 1980 a 1987. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **48**(1/2):81-85, 1988.

5. IARC — *IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*, vol.31, *Some Food Additives, Feed Additives and Naturally Occurring Substances*, Lyon, p. 17, 1983.
6. IARC — *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Man*, vol. 10, *Some Naturally Occurring Substances*, Lyon, p. 55-65, 1976.
7. IARC — *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, Lyon, *Suppl. 7*; 83-87, 1987.
8. IARC working group on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man. Geneva, 1971. *Evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man*. Lyon, IARC, 1972. vol.1, p. 145-156.
9. JOINT/FAO/WHO/UNEP CONFERENCE ON MYCOTOXINS. Nairobi, 1977. *Report*. Roma, FAO, 1977. p. 4-5.
10. MIROCHA, C.J. & CHRISTENSEN, C.M. apud LIN, M.T. — Biologia dos fungos toxicogênicos. In: ENCONTRO NACIONAL DE MICOTOXINAS: PROBLEMAS E SOLUÇÕES. São Paulo, 1980. *Anais*. São Paulo, 1980. p. 11-22.
11. PREGNOLATTO, W. & SABINO, M. — Pesquisa e dosagem de aflatoxinas em amendoim e derivados e em outros cereais. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **29/30**:65-71, 1969/70.
12. SABINO, M. & CORREA, M.J.S. — Aflatoxina B₁ em feijão. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **41**(2):83-87, 1981.
13. SABINO, M.; INOMATA, E.I. & LAMARDO, L.C.A. — Variação dos níveis de aflatoxina B₁ em pasta de amendoim e paçoca consumidos no Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **42**(1/2):39-44, 1982.
14. SABINO, M. — Variações dos níveis de aflatoxina B₁ em alimentos e rações animais no período de 1971 a 1979. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **40**(2):153-158, 1980.
15. SAITO, M.; ENOMOTO, M.; TATSUNO, T. & URAGUCHI, K. apud LIN, M.T. — Biologia dos fungos toxicogênicos. In: ENCONTRO NACIONAL DE MICOTOXINAS: PROBLEMAS E SOLUÇÕES. São Paulo, 1980. *Anais*. São Paulo, 1980. p. 11-22.
16. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. v.1: *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 3ª ed. São Paulo, 1985. p.430-435.
17. STOLOFF, L. & SCOTT, P.M. — Natural poisons. In: ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS — *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 14th ed. Arlington, Virginia, A.O.A.C., 1984. p. 482-499.
18. van RENSBURG, S.J.; COOK-MOZAFFARI, P.; van SCHALKWYK, D.J.; van der WATT, J.J.; VINCENT, T.J. & PURCHASE, I.F. — Hepatocellular carcinoma and dietary aflatoxin in Mozambique and Transkei. *Br. J. Cancer*, **51**:713-726, 1985.

Recebido para publicação em 6 de setembro de 1988.

BIFENILAS POLICLORADAS EM ÓLEOS MINERAIS USADOS EM TRANSFORMADORES*

Heloisa H.C. BARRETO**
Odete N.K. INOMATA**
Walkyria H. LARA**

RIALA6/649

BARRETO, H.H.C.; INOMATA, O.N.K. & LARA, W.H. — Bifenilas policloradas em óleos minerais usados em transformadores. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48 (1/2): 87-92, 1988.

RESUMO: Nos últimos 40 anos, em vários países, entre eles o Brasil, óleos minerais constituídos por Bifenilas Policloradas (PCBs) foram usados em transformadores. Há alguns anos, entretanto, evidências indicam que os PCBs são tóxicos e que foram dispersados no meio-ambiente. Com a finalidade de verificar e monitorar a presença de PCBs no Brasil, analisamos 150 amostras de óleos minerais de transformador colhidas em diversos Estados da federação. Os resultados mostraram que 66,7% das amostras tinham níveis de PCBs, em Aroclor, inferiores a 50 mg/kg e 33% apresentavam níveis de até 782×10^3 mg/kg.

DESCRITORES: óleos minerais, determinação de bifenilas policloradas; bifenilas policloradas em óleos minerais.

INTRODUÇÃO

As bifenilas policloradas (PCBs) são manufaturadas pela cloração progressiva do fenilbenzeno na presença de um agente catalizador, e foram registradas com uma variedade de marcas, tais como Aroclor (EUA), Kanechlor (Japão), Phenochlor (França), Chlofen (RFA), Sovol (URSS) e Fenchlor (Itália)¹⁵.

Os produtos de marca Aroclor, também conhecidos por Askarel, fabricados por Monsanto (Dayton, Ohio/EUA), são comercializados com os números: 1221, 1242, 1248 etc. Os dois primeiros algarismos representam a classe química, correspondente às bifenilas, e os dois últimos, a porcentagem de cloro no produto¹⁵; assim, Aroclor 1221 representa uma bifenila policlorada contendo 21% de cloro.

A produção comercial de PCBs começou em 1929 e por um período de aproximadamente cinquenta anos, esses produtos foram manufaturados nos Estados Unidos e em outros países⁸. O seu valor para a indústria está ligado às suas propriedades de resistência ao calor, não inflamabilidade, baixa pressão de vapor e alta constante dielétrica, sendo largamente usados em plastificantes, retardantes de chamas, óleos isolantes, etc.^{8,13,15}. Entretanto, devido a problemas de poluição ambiental e devido a sua ação tóxica, a produção de PCBs foi restringida nos últimos anos, sendo permitida somente a sua aplicação em sistemas fechados^{13,14,15}.

Outro problema que tem preocupado as autoridades e os usuários de PCBs, é o descarte e a destruição desta substância, que necessita de um cuidadoso controle na sua incineração^{10,12}, pois caso contrário poderão ser formadas, durante a combustão e a pirólise, substâncias como os dibenzofuranos po-

* Realizado na Seção de Aditivos e Pesticidas Residuais do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P. Apresentado no 5º Congresso Brasileiro de Toxicologia, Salvador, Bahia, 1987.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

liclorados e dibenzo-p-policloradas que são mais tóxicas que os PCBs^{7,13}.

Em 1976, no 1º Congresso de Toxicologia, LARA¹¹ apontava os problemas relacionados com o uso de PCBs e solicitava medidas para o seu controle. O uso e a comercialização de PCBs foram regulamentados no Brasil em 1981; e em 1983, através de uma instrução normativa, a Secretaria do Meio Ambiente disciplinou as condições de seu manuseio, transporte e armazenamento^{3,4}. Com essas medidas, surgiu a necessidade de substituir os PCBs dos transformadores por outros produtos que não acarretassem problemas para o meio ambiente. Entretanto, após sua retirada, feita através da drenagem e seguida de lavagem com solvente orgânico, persiste um resíduo que se mistura com o novo produto isolante cujo valor pode ultrapassar os limites de tolerância estabelecidos em outros países^{5,6}, pois no Brasil inexistia legislação pertinente ao assunto.

Com o objetivo de verificar a realidade brasileira frente a este problema e com a preocupação de preservar o meio ambiente, foi proposto um estudo para conhecer os níveis de PCBs em óleos isolantes de transformadores utilizados em alguns Estados do território nacional.

MATERIAL E MÉTODO

Material

Foram analisadas 150 amostras de óleo isolante, proveniente de vários Estados brasileiros.

Equipamentos

1) Coluna cromatográfica de 1 cm de diâmetro interno, contendo 4,5g de sílica desativada com 3% de água.

2) Cromatógrafo a gás Varian Aerograph 2100-00, equipado com detetor de captura de elétrons, fonte de trítium e coluna de vidro de 1/4" de diâmetro interno e 1,8m de comprimento com fase estacionária: 5% Ov 210 em Chromosorb Q, 80-100 mesh, nas seguintes condições: temperatura da coluna 200°C, temperatura do detetor 225°C, temperatura do injetor 210°C e fluxo de nitrogênio 30 ml/min.

3) Cromatógrafo CG 370, equipado com detetor de captura de elétrons com fonte de trítium e coluna de vidro de 1/4" de diâmetro interno e 1,8m de comprimento com fase estacionária 1,5% Ov 17 + 1,95% Ov 210 em Chromosorb Q, 100-120 mesh nas seguintes condições: temperatura da coluna 206°C, temperatura do detetor 230°C, temperatura do injetor 212°C e fluxo de nitrogênio de 40 ml/min.

Método

Foi usado o método do EPA² (Environmental Protection Agency) com modificações na tomada da amostra e na utilização da coluna de sílica para purificação do extrato orgânico obtido no tratamento da amostra com nível de detecção de PCBs de 2 mg/kg no óleo:

Pesar 0,1g da amostra em tubo graduado de 10 ml, com tampa. Adicionar 3 ml de hexana, grau resíduo, agitar e colocar 0,1 ml de ácido sulfúrico p.a. concentrado. Fechar, Agitar vigorosamente e deixar decantar por 5 minutos. Retirar a fase hexânica com pipeta Pasteur e repetir a extração duas vezes com porções de 3 ml de hexana. Reunir os extratos e concentrar ao volume de 3 ml com corrente de nitrogênio. Lavar com água e transferir a camada orgânica para outro tubo graduado. Completar o volume a 5 ml, com o mesmo solvente, e injetar no cromatógrafo nas condições pré-estabelecidas. Se o cromatograma apresentar impurezas, passar o extrato obtido em coluna cromatográfica contendo sílica. Eluir com 30 ml de hexana. Concentrar em rotavapor e transferir para tubo graduado. Completar o volume a 5 ml e injetar no cromatógrafo à gás.

Fazer prova em branco dos reagentes, assim como os testes de recuperação com padrões de Aroclor 1242, 1248, 1254 e 1260, adicionamos isoladamente a 0,1g de uma amostra de óleo mineral isolante isento de PCBs, conforme tabela 1, procedendo a extração como descrito acima.

Calcular a concentração através da somatória das áreas de quatro picos apresentados no cromatograma registrado, comparados com a dos padrões nas mesmas condições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As figuras 1,2,3,4 mostram os cromatogramas dos Aroclor 1242, 1254, 1248 e 1260 e os picos que foram usados para os cálculos. Coluna utilizada: 1,5% Ov 17 + 1,95% Ov 210 em Chromosorb Q.

Nas amostras analisadas foram detectados níveis bastante diversos de Aroclor, sendo que 66,7% apresentaram valores abaixo de 50 mg/kg e as restantes, concentração até um máximo de 782×10^3 mg/kg.

Como a legislação brasileira não estabelece limites de resíduos de PCBs em óleos isolantes, e devido à necessidade de analisar os dados experimentais obtidos, reportou-se à legislação americana, que fixa o valor de 50 mg/kg, como limite máximo tolerado (tabelas 2 e 3). Os resultados elevados, indicam

TABELA 1

Recuperação de padrões de Aroclor adicionados isoladamente ao óleo mineral isolante

Padrão	Concentração (µg/ml)	Recuperação (%)	Recuperação média (%)
Aroclor 1242	0,42	87	93
	0,85	95	
	1,70	97	
Aroclor 1248	0,25	87	87
	0,50	75	
	1,00	98	
Aroclor 1254	0,20	85	84
	0,50	84	
	1,00	82	
Aroclor 1260	0,31	112	100
	0,62	100	
	1,25	89	

TABELA 2

Níveis mínimos e máximos de Aroclor, abaixo de 50 mg/kg, detectados nas amostras de óleos isolantes analisadas

Tipo	Mínimo (mg/kg)	Máximo (mg/kg)
Aroclor 1242	(*)	3,0
Aroclor 1248	3,0	32,1
Aroclor 1254	3,0	46,3
Aroclor 1260	3,0	44,0

(*) Valor abaixo do limite de sensibilidade do método.

TABELA 3

Níveis mínimos e máximos de Aroclor, acima de 50 mg/kg, detectados nas amostras de óleos isolantes analisadas

Tipo	Mínimo (mg/kg)	Máximo (mg/kg)
Aroclor 1242	81	$0,1 \times 10^3$
Aroclor 1248	50	$1,5 \times 10^3$
Aroclor 1254	91	$28,8 \times 10^3$
Aroclor 1260	82	$78,2 \times 10^3$

que a possível troca do óleo isolante à base de PCBs, originalmente presente no transformador, por outro produto isolante, não foi tecnicamente adequada, ou, ainda, que a sua substituição foi realizada com óleo contaminado com bifenilas policloradas.

A tabela 4 mostra a frequência dos diferentes tipos de Aroclor nas amostras analisadas. A maior porcentagem de amostras positivas, isto é, nas quais se detectou a presença de PCBs, continham Aroclor 1254, que fora a bifenila policlorada mais

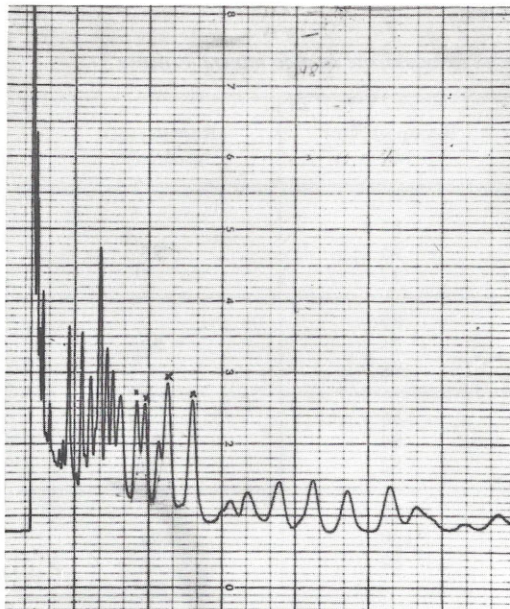


FIGURA 1
Cromatograma padrão Aroclor 1242
concentração 850 pg

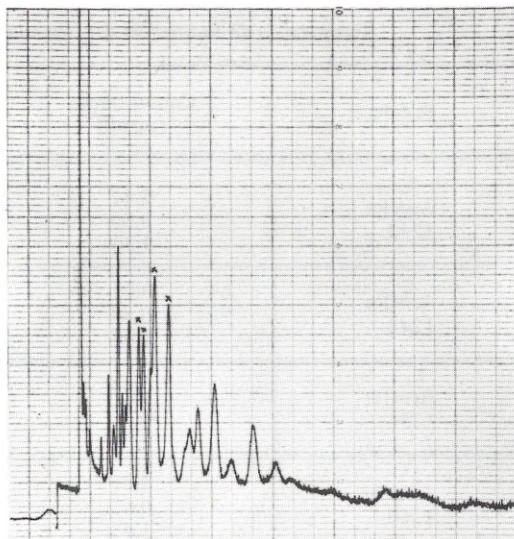


FIGURA 2
Cromatograma padrão Aroclor 1248
concentração 500 pg

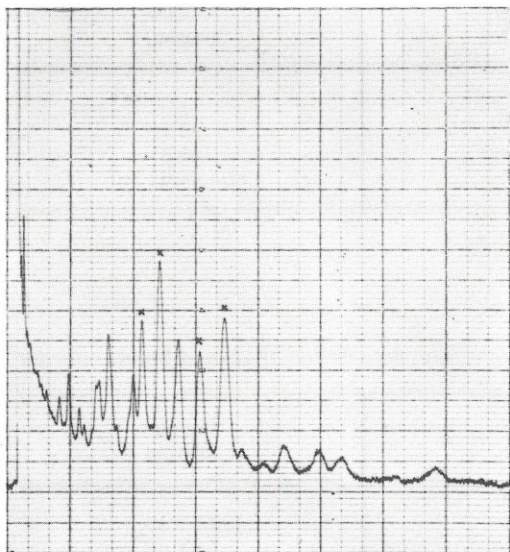


FIGURA 3
Cromatograma padrão Aroclor 1254
concentração 395 pg

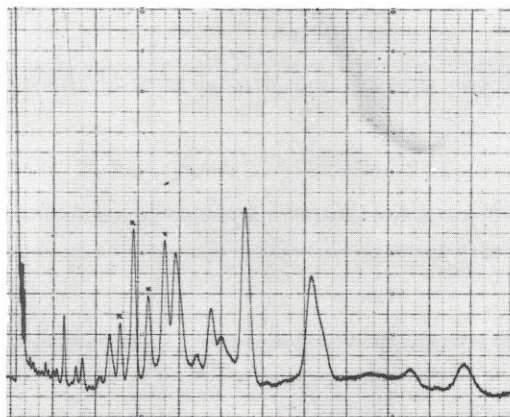


FIGURA 4
Cromatograma padrão Aroclor 1260
concentração 312 pg

TABELA 4

Frequência de Aroclor em 150 amostras de óleos isolantes analisadas

Tipo de PCBs	Amostras positivas (%)
Aroclor 1242	1,33
Aroclor 1248	1,33
Aroclor 1254	25,33
Aroclor 1260	41,33

usada no passado, e Aroclor 1260, que a substituiu até a proibição da fabricação de óleos isolantes com PCBs.

em outros países, os níveis máximos de PCBs em óleos isolantes usados em capacitores e transformadores.

CONCLUSÃO

Em vista dos resultados encontrados é necessário que os órgãos administrativos regulamentem, como

Além disso, é urgente a vigilância e a fiscalização da troca desses óleos, e principalmente de seu descarte, antes que se manifestem graves problemas ecológicos em nosso ambiente.

RIALA6/649

BARRETO, H.H.C.; INOMATA, O.N.K. & LARA, W.H. — Polychlorinated biphenyls in mineral oil for transformers. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48 (1/2):87-92, 1988.

ABSTRACT: Oils of transformers may contain polychlorinated biphenyls (PCBs). They have been used in Brazil and elsewhere during the past 40 years for several industrial and consumer applications. During the last years, it has been accumulated evidence to indicate that PCBs are widely dispersed throughout the environment, and that they have ecological and toxicological effects. In this paper 150 transformer mineral samples from various states of Brasil were collected to monitor PCBs. The analysis showed that 66,7% of samples had levels of PCBs in Aroclor lower than 50,00 mg/kg, and 33,0% of the levels were up to 782×10^3 mg/kg.

DESCRIPTORS: Oils, mineral, determination of polichlorinated biphenyls; polichlorinated biphenyls in oil, mineral.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS — *Standard method for analysis of polychlorinated biphenyls in insulating liquids by gas chromatography*. Philadelphia, ASTM, 1986. (D 4059-86).
2. BELLAR, T.A. & LICHTENBERG, J.J. — The determination of polychlorinated biphenyls in transformer fluid and waste oils. Cincinnati, OH, Environmental Monitoring & Support Laboratory, 1982, 17p. (Research and Development. EPA-600/4-81-045, Sp.1982).
3. BRASIL. Leis, decretos, etc. — Portaria Interministerial nº 19 de 29 de janeiro de 1981, Ministério do Interior. Diário Oficial, Brasília, 2 de fevereiro de 1981. Seção I, pt.1, p.2151. Dispõe normas reguladoras do uso, produção, comercialização e despejo das bifenilas policloradas (PCBs) em todo território nacional.
4. BRASIL. Leis, decretos, etc. — Instrução Normativa SEMA/STC/CRS/ Nº 001, de 15 de junho de 1983. Diário Oficial, Brasília, 15 de junho de 1983. Seção I, pt. 1, p.10.403. Disciplina as condições de manuseio, armazenamento e transporte de bifenilas policloradas (PCBs) e/ou resíduos contaminados com PCBs.
5. DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG — Bestimmung des gehaltes an polychlorierten biphenylen (PCB) (DIN 51 527 — Teil 2, März 1986).
6. FEDERAL REGISTER, 50: 1684, 1985 Apud LAWN, R.E. & TOFFEL, S.A. — Determination of polychlorinated biphenyls in waste oil by gas chromatograph. *Analyst*, 112(1):53, 1987.
7. HUTZINGER, O.; CHOUDRY, G.G.; CHITTIM, B.G. & JOHNSTON, L.E. — Formation of polychlorinated dibenzofurans and dioxins during combustion, electrical equipment fires and PCB incineration. *Environ. Health Perspect*, 60:3-9, 1985.

8. IARC Working Group on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Lyon, 1977/1978. *Polychlorinated biphenyls and polybrominated biphenyls*. Lyon, IARC, 1978. 103p. (IARC monographs, 18).
9. JENSEN, S.; JOHNELS, A.G.; OLSSON, M. & OTTERLIND, G. — DDT and PCB in marine animals from Swedish water. *Nature*, **224**:247-50, 1969.
10. JOHNSTON, L.E. — Decontamination and disposal of PCB wastes. *Environ. Health Perspect.*, **60**: 339-346, 1985.
11. LARA, W.H. — Bifenilas policloradas. Sua história e seus problemas In Congresso de Toxicologia Tropical, 1ª, Manaus, 1976. Anais. p.181-185.
12. MONSANTO INDUSTRIAL CHEMICALS CO. Transformer Askarel inspection maintenance guide. St. Louis, Monsanto, s.d. (Bulletin NO IC/FF 38) 24p.
13. NEAL, R.A. — Mechanisms of the biological effects of PCBs, Polychlorinated, Dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans in experimental animals. *Environ. Health Perspect.*, **60**:41-46, 1985.
14. SLEIGHT, S. — Effects of PCBs and related compounds on hepatocarcinogenesis in rats and mice. *Environ. Health Perspect.*, **60**:35-39, 1985.
15. WHO TASK GROUP on Environmental Health Criteria for Polychlorinated biphenyls. Copenhagen, 1975. *Polychlorinated biphenyls and terphenyls*. Geneva, WHO, 1976. 85p. (Environmental Health Criteria, 2).

Recebido para publicação em 13 de setembro de 1988.

DOSAGEM DE CREATININA: FATORES DE ERRO NA REAÇÃO DE JAFFÉ*

Lucia N. CASTILHO**
Mary M. YUKI**
Marina Y. N. ODA**
Heidi P. MARTINS**

RIALA6/650

CASTILHO, L.N.; YUKI, M.M.; ODA, M.Y.N. & MARTINS, H.P. — Dosagem de creatinina: fatores de erro na reação de Jaffé. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):93-98, 1988.

RESUMO: Estudamos o mecanismo da reação de Jaffé para a determinação da creatinina humana, utilizando os métodos cinético e ponto-final. Foi analisada a magnitude de interferência nas constantes físicas (tempo e temperatura de incubação) e no equilíbrio da reação, obtendo-se valores subestimados a 25°C nos 2 métodos estudados. Os resultados a 30°C são coerentes com os valores de referência descritos na literatura. A hiperglicemia interfere mais significativamente na reação de ponto-final, elevando os resultados de creatinina a partir de 290 mg%. O método cinético mostrou-se bastante eficaz na dosagem da creatinina sérica discriminando valores sem interferência de substâncias redutoras e com reprodutibilidade compatível às melhores técnicas laboratoriais.

DESCRITORES: creatinina no soro humano, dosagem; Reação de Jaffé; método cinético; método de ponto-final; interferentes.

INTRODUÇÃO

As determinações da creatinina sérica são frequentemente usadas para a avaliação do progresso das doenças renais. Esta dosagem fornece um melhor índice da função renal em relação à uréia, visto que é pouco afetada pela dieta, taxa metabólica e volume urinário²⁰.

A quantificação da creatinina "verdadeira" no soro permanece problemática desde a sua introdução pela reação colorimétrica de Jaffé com picrato alcalino até o presente momento. O princípio desta reação é a formação de um cromógeno alaranjado de picrato alcalino e creatinina denominado complexo de Janovsky². Sabe-se que vários compostos, tais como as cetonas, demonstram uma alta reatividade com o picrato⁹. Para tentar isolar a creatinina dos interferentes cromógenos foram

desenvolvidas várias técnicas, tais como: adsorção¹⁴, hidrólise enzimática¹³, oxidação⁸, extração¹⁷, acidificação secundária⁴, diálise¹⁶ e mais recentemente reações cinéticas¹¹ e cromatografia líquida de alta resolução¹⁵.

Outros problemas que também afetam a dosagem de creatinina são o tempo e a temperatura de incubação¹¹, assim como a concentração do ácido pícrico e a alcalinidade do tampão²⁰.

Constatamos em nossa rotina que a variação da temperatura ambiente estava relacionada com a flutuação dos resultados de creatinina sérica.

Observamos, também, que amostras de soro apresentando valores de creatinina alterados eram, geralmente, de pacientes hiperglicêmicos.

** Trabalho realizado na Seção de Análises Clínicas do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

A partir desses achados, propusemo-nos a avaliar a influência dos interferentes exógenos (temperatura) e endógenos (glicose) sobre a quantificação da creatinina sérica, realizando um estudo comparativo dos métodos cinético e de ponto-final, ambos baseados na reação de Jaffé.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado um "pool" de soros com nível de creatinina normal, provenientes de Centros de Saúde de São Paulo. As dosagens foram executadas através da reação de Jaffé, empregando-se o método de ponto-final¹² e o cinético^{1,10}.

No método de ponto-final utilizamos o ácido picrico (9,19 g/l) como desproteinizante e o sobrenadante foi alcalinizado com tampão glicina-soda (1,88g/4g qsp 100ml, pH 12,4), sendo as leituras realizadas a 510 nm, após incubação por 20 minutos a 30°C. No método cinético empregamos o ácido picrico 1,7g/l e NaOH 0,5N, executando leituras espectrofotométricas a 492 nm, incubando-se por 2 minutos a 30°C.

Para se verificar a linearidade e a reprodutibilidade foram feitas curvas de calibração a 30°C para os 2 métodos, com padrões de creatinina (Merck, PA) cujas concentrações variaram de 2 a 10 mg%.

Neste estudo avaliamos o efeito causado na reação por variações de temperatura e concentrações de glicose (hiperglicemias) na determinação da creatinina sérica.

a) Efeito da temperatura

As dosagens de creatinina foram feitas pelos dois métodos acima citados em temperaturas de 25/30°C, utilizando um n = 108 para o método de ponto-final e um n = 20 para o cinético (Tabela 1).

b) Efeito da hiperglicemia

Para avaliarmos a interferência da glicose na reação de Jaffé adicionamos ao "pool" de soro quantidades crescentes de glicose (Merck, PA) suficientes para obtermos níveis "séricos" de 190 a 495 mg%. Os métodos de ponto-final e cinético, neste caso, foram padronizados a 30°C, sendo o n = 26 para cada concentração de glicose (Tabela 2), totalizando 312 determinações. A análise do próprio "pool" de soros normais foi feita para controle.

As leituras espectrofotométricas da creatinina foram realizadas no Spectronic 21 (Bausch-Lomb) com termostatização das cuvetas. A glicemia foi determinada pelo método U.V. da hexoquinase (Abbott Labs) no ABA 100 em 340 nm, cuja faixa normal é de 76 a 115 mg%.

A análise estatística dos resultados obtidos foi processada em um Microcomputador PC XT (Pro-lógica SP16 286) através do programa IBM Compatível "Statigraphics" versão 1.0, n° de série 378918. A comparação dos parâmetros estudados (temperatura e hiperglicemia) foi feita pelo teste "t" de Student, fixando-se o nível de significância em 5%.

RESULTADOS

Na figura 1 apresentamos as curvas de calibração para os métodos de ponto-final e cinético. No método de ponto-final obtivemos a seguinte equação: $y = 0,101x + 0,009$ e um coeficiente de correlação de 0,98. Para a curva de calibração do método cinético obtivemos a equação: $y = 0,06x + 0,004$ e um coeficiente de correlação de 0,99.

Na tabela 1 apresentamos os resultados de creatinina sérica pelos métodos de ponto-final e cinético a 25 e 30°C, expressos em mg% (os valores são representados por média \pm dp).

TABELA 1

Valores de creatinina obtidos pelos métodos analíticos de ponto final e cinético, em pool de soros

Método	Temperatura	
	25°C	30°C
Ponto final (mg%) (n = 108)	0,65 \pm 0,21	0,90 \pm 0,22*
Cinético (mg%) (n = 20)	0,62 \pm 0,05	0,84 \pm 0,07*

* $p < 0,05$ 25°C X 30°C

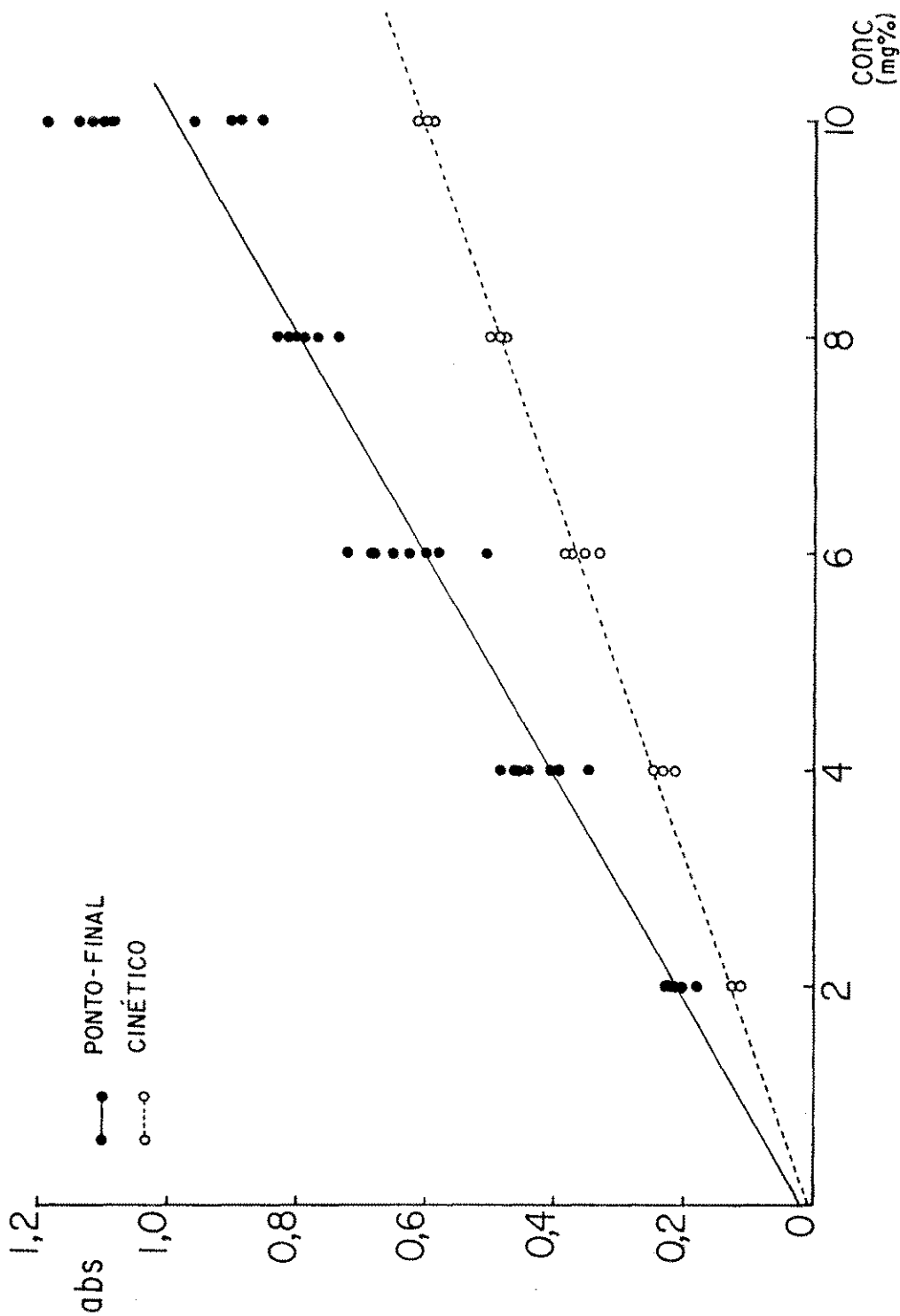


FIGURA 1 — Curvas de calibração (concentração X absorbância) dos métodos de ponto-final (n = 50) e cinético (n = 25), a 30°C.

TABELA 2

Resultados de creatinina obtidos pelos métodos de ponto final e cinético, em pool de soros, acrescidos de quantidades conhecidas de glicose

Método	Conc. glicose	HG				
	C	290 mg%	323 mg%	390 mg%	450 mg%	495 mg%
Ponto-final	0,84±0,14	1,10±0,15*	1,07±0,08*	1,19±0,13*	1,33±0,13*	1,46±0,26*
Cinético	0,86±0,06	0,85±0,05	0,83±0,06	0,83±0,06	0,85±0,05	0,95±0,05*

C = Controle

HG = Hiperglicêmicos

* $p < 0,05$ C X HG

Observamos que existe diferença significativa entre as dosagens realizadas a 25 e 30°C nos dois métodos empregados.

Em relação a interferência de níveis elevados de glicose na creatinina sérica obtivemos os resultados apresentados na tabela 2, expressos em mg% (os valores representam média ± dp).

Podemos observar que o método de ponto-final apresenta resultados significativamente mais elevados, já na concentração de 290 mg% de glicose. Por outro lado, no método cinético, verificamos não haver interferência da hiperglicemia nos resultados obtidos, a não ser em concentração igual ou superior a 495 mg%.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Atualmente, vários autores têm enumerado as vantagens decorrentes da utilização da cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) e da espectrometria de massa que aliam a precisão à sensibilidade, uma vez que evitam a influência dos interferentes químicos.

Apesar da eficiência dessas metodologias, elas não são facilmente aplicáveis em laboratórios de análises clínicas, onde se prefere empregar as técnicas bioquímicas de ponto-final e cinética, cujas vantagens são o manuseio simples e o baixo custo operacional.

A reação de Jaffé não é específica para creatinina. Todos os compostos que possuem grupamentos cetônicos (grupo carbonila) reagem com o ácido picrico em pH alcalino, formando um componente cuja complexidade molecular ainda não está elucidada. GREENWALD & GROSS³ sugeriram um tautômero de creatinina-picrato sem especificar

uma estrutura exata. Em estudos mais recentes, BUTLER² e VASILIADES¹⁸ sugerem a formação de um composto constituído por 2 moléculas de creatinina para uma de ácido picrico ou 1 molécula de creatinina para 1 de ácido picrico (complexo de Janovsky).

A temperatura de incubação também é fator importante, pois abaixo de 25° e acima de 30°C os resultados apresentam-se sub ou superestimados, respectivamente.

Nossos resultados demonstraram existir alterações significativas na quantificação da creatinina a 25 e a 30°C. Para cada grau de variação da temperatura, observamos uma diferença de 5,6% no método de ponto-final e de 5,2% no cinético, considerando-se que esta reação apresenta linearidade até 10 mg% (Lei de Lambert-Beer).

LUSTGARTEN & WENK¹¹ verificaram uma diferença de 3% na determinação da creatinina para cada grau de variação da temperatura, sugerindo que este parâmetro não foi crítico para o método cinético. Porém, estes autores não analisaram estatisticamente os seus resultados.

Os valores de referência descritos na literatura para a creatinina sérica situam-se na faixa de 0,8 a 1,1 mg%⁵.

Em nosso trabalho notamos que a 30°C, tanto no método de ponto-final como no cinético, os resultados obtidos estão incluídos no intervalo acima citado.

Por esta razão, as curvas de calibração e o estudo do efeito da hiperglicemia na dosagem da creatinina sérica, pelos 2 métodos, foram padronizados a 30°C.

A perfeita correlação verificada em ambas as curvas de calibração demonstra que os 2 métodos possuem linearidade até 10 mg%, existindo uma menor dispersão dos valores na reação cinética, não havendo portanto, necessidade de um número muito elevado de dosagens.

A presença de outros redutores existentes normalmente no soro humano (oses, uréia, etc.), também interfere no desenvolvimento da cor da reação (pigmento alaranjado) originando resultados falsamente altos¹¹. Por outro lado, quando o soro se apresenta icterico, os valores de creatinina são **superestimados**^{6,7,19}.

Em nosso estudo, verificamos que a hiperglicemia de 290 mg% já interfere na quantificação da creatinina pelo método de ponto-final.

No método cinético não obtivemos nenhuma alteração nos níveis séricos de creatinina na faixa de 290 a 450 mg% de glicose, observando apenas uma superestimação em soros com glicemia de 495 mg%.

É provável que esta interferência da glicose na reação colorimétrica de ponto-final ocorra devido, não apenas a sua permanência no sobrenadante, como também ao longo tempo de incubação que permite a sua oxidação.

Já o método cinético, apesar de utilizar os mesmos reagentes, apresenta a vantagem de um tempo reduzido de análise, evitando, assim, a oxidação de **outras substâncias além da creatinina**. Desta forma, o método cinético mostrou-se bastante útil para discriminar se os valores elevados de creatinina sérica, encontrados em indivíduos diabéticos, são resultantes da interferência da hiperglicemia ou se são conseqüentes às lesões renais desses pacientes.

Portanto, podemos concluir que: 1) há necessidade do controle minucioso dos vários parâmetros que alteram a quantificação da creatinina sérica, quando optamos pela reação de Jaffé; 2) o método cinético é mais adequado para a rotina de nosso laboratório, uma vez que minimiza a interferência dos fatores endógeno e exógeno estudados.

RIALA6/650

CASTILHO, L.N.; YUKI, M.M.; ODA, M.Y.N. & MARTINS, H.P. — Creatinine Dosage: Error Factors in the Jaffé Reaction, *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48(1/2):93-98, 1988.

ABSTRACT: We investigated the mechanism of the Jaffé reaction for the determination of creatinine by studying the kinetic and end-point reactions. The magnitude of interference of the physical constants (time and temperature) and the hyperglycemia in the equilibrium of the reaction has been studied besides the consequent shifts in its spectrum, showing a maximum absorbance at 490 nm.

DESCRIPTORS: creatinine in human serum, dosage; Jaffé reaction; kinetic method; end-point method; interferents.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARTELS, H.; BÖHMER, M. & HEIERLI, C. Serum kreatininbestimmung ohne enteissen. *Clin. Chim. Acta* 37:193-197, 1972.
2. BUTLER, A.R. The Jaffe reaction: identification of the coloured species. *Clin. Chim. Acta*, 59:227-232, 1975.
3. GREENWALD, I. & GROSS, J. The chemistry of Jaffe's reaction for creatinine, a red tautomer of creatinine picrate. *J. Biol. Chem.*, 59:601-612, 1924.
4. HEINÉGARD, D. & TIDERSTRÖM, G. Determination of serum creatinine by a direct colorimetric method. *Clin. Chim. Acta*, 43:305-310, 1973.
5. HENRY, R.J.; CANNON, D.C. & WINKELMAN, J.W. *Clinical Chemistry — Principles and Techniques*. 2nd ed. Maryland, Harpes & Row, 1974. p.550.
6. KIRKPATRICK, M.; MOODY, C.; BATES, D.A. & SHAFFAR, M. Faster creatinine assay in the Abbott Spectrum System. *Clin. Chem.*, 33(8):1466-1467, 1987.
7. KNAPP, M.L. & MAYNE, P.D. Development of an automated kinetic Jaffé method designed to minimize bilirubin interference in plasma creatinine assays. *Clin. Chim. Acta*, 168:239-246, 1987.
8. KOSTIR, J.V. & SONKA, J. Creatinine estimation in blood serum: new method. *Biochim. Biophys. Acta*, 8:86-89, 1952.

9. KROLL, M.H.; ROACH, N.A.; POE, B. & ELIN, R.J. Mechanism of interference with the Jaffé reaction for creatinine. *Clin. Chem.*, 33(7):1129-1132, 1987.
10. LARSEN, K. Creatinine assay by a reaction-kinetic principle. *Clin. Chim. Acta*, 41:209-217, 1972.
11. LUSTGARTEN, J.A. & WENK, R.E. Simple, rapid, kinetic method for serum creatinine measurement. *Clin. Chem.*, 18:1419-1422, 1972.
12. MARTINEZ, E. & DOOLAN, P.D. Determination of creatinine in small quantities of plasma. Observations on two methods. *Clin. Chem.*, 6:233-242, 1960.
13. MCLEAN, M.H.; GALLWAS, J. & HENDRIXSON, M. Evaluation of an automated creatinase creatinine procedure. *Clin. Chem.*, 19:623-625, 1973.
14. MITCHELL, R.J. Improved method for specific determination of creatinine in serum and urine. *Clin. Chem.*, 19:408-410, 1973.
15. PATEL, C.P. & GEORGE, R.C. Liquid chromatographic determination of creatinine in serum and urine. *Anal. Chem.*, 53:734-735, 1981.
16. RAPOPORT, A. & MUSDAN, H. Endogenous creatinine clearance and serum creatinine in the clinical assessment of kidney function. *Can. med. Assoc. J.*, 99:149-156, 1968.
17. TAUSSKY, H. A procedure increasing the specificity of the Jaffé reaction for determination of creatinine in urine and plasma. *Clin. Chim. Acta*, 1:210-224, 1956.
18. VASILIADES, J. Reaction of alkaline sodium picrate with creatinine: I. Kinetics and mechanism of formation of the mono-creatinine picric acid complex. *Clin. Chem.*, 22(10):1664-1671, 1976.
19. WATKINS, R.E.; FELDKAMP, C.S.; THIBERT, R.J. & ZAK, B. Interesting interferences in a direct serum creatinine reaction. *Microchem. J.*, 21:370-384, 1976.
20. YATZIDIS, H. New method for direct determination of "true" creatinine. *Clin. Chem.*, 20(9):1131-1134, 1974.

Recebido para publicação em 2 de novembro de 1988.

ÍNDICE DE AUTOR/AUTHOR INDEX

- AKATUKA, A.S., 49
ALVES, H.I., 37
ANTUNES, J.L.F., 29
ARAÚJO, M.F.L., 1
ATUI, M.B., 37
AUGUSTO, M.H.O., 29
AURICCHIO, M.T., 49
BALANCO, J.M.F., 1
BARATA, R.C.B., 43
BARRETTO, H.H.C., 87
BATISTIC, M.A., 37
CASTILHO, L.N., 93
CHAVES, M.A., 49
CHICOUREL, E.L., 17
CHIEFFI, P.P., 63, 75
CHIMARA, R., 75
COLOMBO, S., 57
COSTA, O.V., 29
DEL BIANCO, R., 63
DIAS, R.M.D.S., 63, 75
DUARTE, M., 17
EJZEMBERG, B., 57
FERRARI, L., 63
GELLI, D.S., 21
GIANNATTASIO, C.M.P., 81
ICHIWAKA, A.H., 81
INOMATA, E.I., 81
INOMATA, O.N.K., 87
KAWANO, M., 21
KUSSUMI, T.A., 21
LAMARDO, L.C.A., 81
LANDGRAF, I.M., 43
LARA, W.H., 87
MANGINI, A.C.S., 63
MARSIGLIA, D.A.P., 7
MARTINS, H.P., 93
MELLES, C.E.A., 43
MELLES, H.H.B., 57
MIZUMOTO, L.C., 75
NUNES, E.V., 5
ODA, M.Y.N., 93
PEDRO, N.A.R., 21
PINTO, W.P., 63
RODAS, M.A.B., 17
RODRIGUES, R.M.M.S., 37
SABINO, M., 81
SANTOS, M.C., 69
SARUWTARI, J.H., 17
SILVA, A.M.A., 75
SILVEIRA, N.V.V., 17
SOUZA, A., 21
SPITERI, N., 37
TAKAHASHI, M.Y., 7
TANIGUCHI, H.H., 5
TOLEZANO, J.E., 1, 5
TORRES, D.M.A.G.V., 63, 75
UEHARA, M., 75
VALENTIM, A.M., 1
WALDMAN, E.A., 75
YABIKU, H.Y., 7
YUKI, M.M., 93
ZAMBONI, C.Q., 37, 69

ÍNDICE DE ASSUNTO

- Aflatoxina B₁
em alimentos, determinação, 81
em rações animais, determinação, 81
- Água de poço
determinações químicas e biológicas em, 21
ciclo de nitrogênio, 21
poluição por micróbios, 21
- AIDS
veja Síndrome da imunodeficiência adquirida
- Alimentos
aflatoxina B₁ em, determinação, 81
corantes artificiais em, determinação, 7
- Chocolate
adulteração, 37
material estranho em, determinação
microscopia, 37
- Corantes artificiais
em alimentos, determinação, 7
- Creatinina
em soro humano, dosagem
Reação de Jaffé
pelo método cinético, 93
pelo método do ponto-final, 93
- Dieta
suplementos dietéticos
DL-lisina em, determinação, 49
- Doenças transmissíveis
veja Moléstias transmissíveis
- Enteroparasitoses, prevalência
em escolares
Guarulhos, São Paulo, Brasil, 75
na síndrome da imunodeficiência adquirida
(SIDA), 63
- Hanseníase
legislação sanitária federal brasileira, 29
- Leishmania* sp.
isolamento de creme leucocitário, 1
- Leishmaniose tegumentar
Estado de São Paulo, Brasil, 1
- Leite
preparações lácteas, 17
- Lepra
veja Hanseníase, 29
- Lisina
DL-lisina
em medicamentos, 49
em suplementos dietéticos, 49
- Medicamentos
DL-lisina em, determinação, 49
- Meningite bacteriana
diagnóstico laboratorial, 43
influência da antibioticoterapia prévia
na elucidação etiológica, 43
- Merenda escolar
preparações lácteas para, valor nutritivo, 17
- Moléstias transmissíveis
assistência, 29
profilaxia, 29
- Óleos minerais
bifenilas policloradas em, determinação, 87
- Pneumonia, *Chlamidia trachomatis*
diagnóstico sorológico, 57
- Preparações lácteas
para merenda escolar,
composição centesimal, 17
valor calórico, 17
- Produtos alimentícios
veja Alimentos
- Rações animais
aflatoxina B₁ em, determinação, 81
- SIDA
veja Síndrome da imunodeficiência adquirida
- Síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA)
São Paulo, SP, Brasil, 63
- Soro humano
creatinina em, dosagem, 93
- Tomate
extrato, molho (*catchup*), purê
material estranho em, detecção
microscopia, 69
- Triatoma infestans*, 5
- Trypanosoma cruzi*
sobrevivência, 5

SUBJECT INDEX

- Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)
São Paulo, SP, Brazil, 63
- Aflatoxin B₁
in feed, determination, 81
in food, determination, 81
- Chocolate
adulteration, 37
filth in, detection
microscopy, 37
- Communicable diseases
care, 29
prevention, 29
- Creatinine
in human sera, dosage
Jaffé reaction
by kinetic method
by end-point method
interferents, 93
- Diet
dietetic supplements
DL-lysine in, determination, 49
- Dyes, synthetic
in foods, determination, 7
- Feed
aflatoxin B₁ in, determination, 81
- Food
aflatoxin B₁ in, determination, 81
dyes, synthetic, in, determination, 7
- Hanseniasis
see Leprosy
- Intestinal diseases, parasitic
in schoolchildren, prevalence
Guarulhos, São Paulo, Brazil, 75
in acquired immunodeficiency syndrome
(AIDS), 63
- Leishmania* sp.
isolation from peripheral blood leukocytes, 1
- Leishmaniasis, mucocutaneous
São Paulo, SP, Brazil, 1
- Leprosy
Brazilian health federal legislation, 29
- Lysins
DL-lysine
in dietetic supplements, determination, 49
in pharmaceuticals, determination, 49
- Meal
school meal
lactic preparation for, 17
- Meningitis, bacterial
antimicrobial drugs interference
in etiological elucidation, 43
laboratorial diagnosis, 43
- Milk preparations
for school meals
caloric value, 17
centesimal composition, 17
nutritive value, 17
- Oils, mineral
polychlorinated biphenyls in,
determination, 87
- Pharmaceuticals
DL-lysine in, determination, 49
- Pneumonia, *Chlamydia trachomatis*
serological diagnosis, 57
- Sera, human
creatinin in, determination, 93
- School meal
milk preparations for,
nutritive value, 17
- Tomato
paste, pure, sauce (catchup)
filth in, detection
microscopy, 69
- Triatoma infestans*, 5
- Trypanosoma cruzi*
survival, 5
- Waters, well
chemical and microbiological
determination in, 21
nitrogen cycle, 21
microbial pollution, 21

PRODICAFI

Fotocomposição, Diagramação
Arte, Fitolito e Impressão
PRODICAFI Gráfica e Editora Ltda.
Fones: 571-3095 e 572-9927