



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

REVISTA
do
INSTITUTO
ADOLFO LUTZ

ISSN 0073 - 9855

RIALA6

VOLUME 40

NUMERO 2

DEZEMBRO, 1980



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

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

REDATOR RESPONSÁVEL

AUGUSTO DE ESCRAGNOLLE TAUNAY

Diretor do Instituto Adolfo Lutz

COMISSÃO DE REDAÇÃO

MARCELO OSWALDO ALVARES CORREIA, *Presidente*

ELISEU ALVES WALDMAN

ELZA SCHWARZ GASTALDO BADOLATO

LUÍS FLORENCIO DE SALLES GOMES

ODAIR ZENEBO

PEDRO PAULO CHIEFFI

ROBERTO A. PINTO PAES

MERCEDES DELLA FUENTE, *Secretário*

REDATOR-SECRETÁRIO

DEBORA DOMINGUES ESTRELLA REBOCHO

Endereço/address

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

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

(*)

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

1941-1979, 1-39

1980, 40(1,2)

ISSN 0073 — 9855
RIALA6

CDD 18 614.07205



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

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

REVISTA
DO
INSTITUTO
ADOLFO LUTZ

ISSN 0073-9855

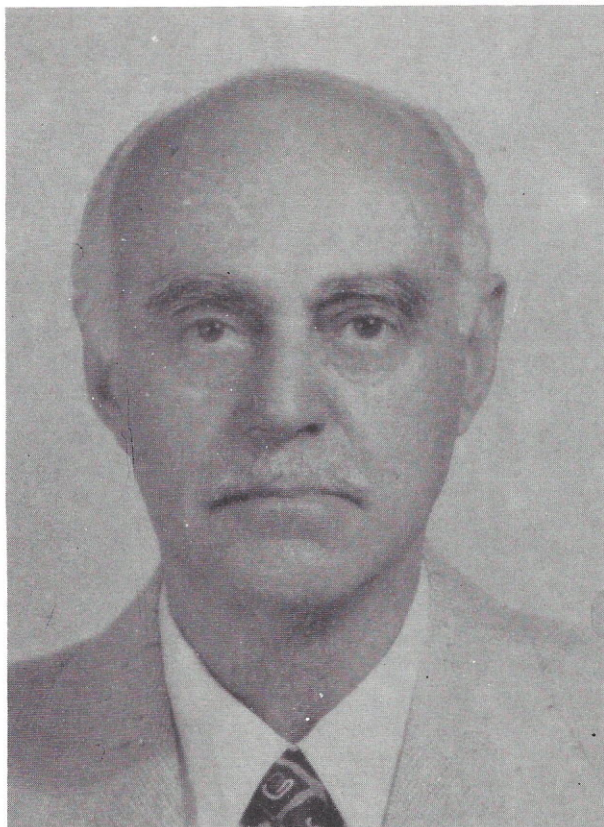
RIALA6

Rev. Inst. Adolfo Lutz, São Paulo, 40(2):75-166, dez. 1980.

SUMARIO/CONTENTS

- 502 Manoel de Britto e Silva. Necrologio
Manoel de Britto e Silva. Necrology
Marcelo Osvaldo Álvares CORRÊA 75-76
- 503 Infecção intra-hospitalar ocasionada por biossoro tipo de *Salmonella typhimurium* lisina descarboxilase negativa em Presidente Prudente, Estado de São Paulo
Intrahospital infection caused by bioserotype of Salmonella typhimurium negative for lysine decarboxylase in Presidente Prudente, São Paulo State
Maria Regina Novaes Ramires ESPER; Gil Vital Álvares PESSÔA; Marlene SPIR. Chifumi Takeuchi CALZADA; Ruth Nobuko AMANO & Aracelis Moreno de FREITAS 77-82
- 504 A tripanosomíase americana e sua transmissão transfusional
American trypanosomiasis and its transmission by transfusion
José Eduardo TOLEZANO; Mirthes UEDA; Heico MITSUKA; Sérgio Márcio Pacheco PASCHOAL; Cleusa Regina de MORAES; Milton de Arruda MARTINS & Marco Aurélio Pereira LIMA 83-88
- 505 Importância das plantas ornamentais dos aquários como veículos de propagação de vetores de *Schistosoma mansoni*
The importance of ornamental plants of aquaria as vehicles of Schistosoma mansoni vectors propagation
Lúcia de Lacerda CORRÊA; Marcelo Osvaldo Álvares CORRÊA; Jorge Faria VAZ; Maria Ivani P. Gonçalves da SILVA; Rita Maria da SILVA & Maria Terumi YAMANAKA 89-96
- 506 Actinomicose apendicular. Estudo anátomo-clínico de um caso
Appendicular actinomycosis. Anatomoclinic study of one case
Roberto A. Pinto PAES; Evandro Letti VESCIO; Maria Josefa GONCALVES; José Donato de PRÓSPERO & Fares RAHAL 97-100
- 507 Utilização da técnica de anticorpos não marcados peroxidase (PAP) na detecção do antígeno de superfície da hepatite B em tecido hepático
Peroxidase — antiperoxidase unlabelled antibody technique (PAP) for the detection of hepatitis B surface antigen in hepatic tissue
Venâncio Avancini Ferreira ALVES; Carlos Floriano de MORAIS; Raimunda Telma de Macedo SANTOS; Augusta Kiyomi TAKEDA & Luís Carlos da Costa GAYOTTO 101-106

| | | |
|-----|--|---------|
| 508 | Isolamento de enterobactérias patogênicas em berçários do município de São Paulo <i>Isolation of enteropathogenic bacteria in nurseries of Municipality of São Paulo, Brazil</i> Gil Vital Alvares PESSÓA; Ruth Takako SUGUIMORI; Kinue IRINO; Mathilde RASKIN & Chifumi Takeuchi CALZADA | 107-127 |
| 509 | Relação umidade/proteína de salsichas enlatadas e seu comportamento em função do tempo de processamento <i>Moisture/protein ratio of canned sausages and its behavior in function of the time of processing</i> Pasqual MUCCILO; Dirceu Rodrigues MEIRA & Messias C. G. GOMES | 129-134 |
| 510 | Determinação de β -asarona em bebidas alcoólicas <i>Determination of β-asarone in alcoholic beverages</i> Helena Yuco YABIKU & Franco Maria LAJOLO | 135-145 |
| 511 | Níveis de nitratos em alimentos infantis <i>Levels of nitrate in baby foods</i> Walkyria H. LARA; Mickiko Y. TAKAHASHI & Helena Y. YABIKU | 147-152 |
| 512 | Variações de níveis de aflatoxina B ₁ em alimentos e rações animais no período de 1971 a 1979 <i>Variations in levels of aflatoxin B₁ in foods and animal feeds during the period from 1971 to 1979</i> Myrna SABINO | 153-158 |
| 513 | Interação entre helmintos parasitas intestinais de murideos capturados no município de São Paulo, SP, Brasil <i>Mutual influence among intestinal parasitic helminths in rats collected in São Paulo county, State of São Paulo, Brazil</i> Pedro Paulo CHIEFFI; Domingas Maria A. GRISPINO; Rosa Maria D. Souza DIAS; Ana Célia S. MANGINI & Marilda L. da Silva GUEDES | 159-163 |
| 514 | Primeiro encontro de <i>Biomphalaria straminea</i> Dunker, 1848, no município de Cruzeiro, Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, naturalmente infectada por cercárias de <i>Schistosoma mansoni</i> . Nota prévia <i>First identification of Biomphalaria straminea Dunker, 1848, naturally infected by Schistosoma mansoni cercarias in the county of Cruzeiro, Valley of Paraíba River, State of São Paulo, Brazil. Preliminary note</i> Luiz dos SANTOS; Ioli Bueno COSTA; Constança C. Simões Barbosa FIGUEIREDO & Marli Aparecida G. ALTOMANI | 165-166 |
| | INDICE DE AUTOR/ANTHOR INDEX | 167-168 |
| | INDICE DE ASSUNTO | 169-170 |
| | SUBJECT INDEX | 171-172 |



MANOEL DE BRITTO E SILVA

Aos 13 de agosto de 1980, faleceu o nosso amigo e colega Manoel de Britto e Silva, nascido em Recife aos 9 de julho de 1914, conforme consta no Registro Civil do Segundo Distrito Municipal do Recife, Freguezia da Graça, Estado de Pernambuco: "Aos onze dias do mez de Julho de mil novecentos e quatorze neste Cartório, compareceu Agostinho de Barros e Silva e perante as testemunhas abaixo assignadas disse: Que às vinte e uma horas do dia nove do corrente mez em casa de sua residencia à Estrada dos Afflictos, numero trinta e cinco deste districto, nascera uma creança do sexo masculino, filho legitimo delle declarante e sua mulher Dona Adelia de Britto e Silva; que a creança tomou o nome de Manoel de Britto e Silva..."

Aos 8 de dezembro de 1938 colou grau de Médico pela Faculdade de Medicina do Recife, recebendo o diploma aos 31 de janeiro de 1939. Neste mesmo ano, veio para São Paulo, iniciando aos 15 de março o estágio no então Instituto Bacteriológico do qual era Diretor o Prof. Dr. José Pedro de Carvalho Lima. Ainda estagiário, Manoel de Britto e Silva foi designado para observar um surto de "mononucleose infectuosa" que grassou em Mogi-Mirim, entre dezembro de 1939 e fevereiro de 1940. Nessa ocasião, trabalhava ele no Instituto Bacteriológico com a reação de Paul-Bunnell "que entre nós ainda era desconhecida ou não tinha sido posta em prática. Sobre os nossos resultados publicamos um trabalho no 1.º número desta Revista, em 1941" (BRITTO & SILVA, M. — Surto epidêmico de mononucleose infectuosa. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 2(1):42-44, 1942). Este trabalho foi pioneiro e introduziu em nosso meio a referida reação como elemento básico para o diagnóstico sorológico da mononucleose infecciosa.

Aos 26 de outubro de 1940, foi criado o Instituto Adolfo Lutz, Laboratório Central de Saúde Pública do Departamento de Saúde de São Paulo, resultado da fusão do Instituto Bacteriológico e do Laboratório Bromatológico do Estado. Por decreto de 29 de outubro do mesmo ano, como biologista, foi nomeado o nosso Manezinho, como era denominado entre nós, a traduzir o carinho que sua personalidade alegre, espontânea e cândida despertava.

E, na casa de Adolfo Lutz, decorreu a maior parte de sua carreira profissional, a outra vivendo-a como responsável por laboratório de Patologia Clínica.

Foi Chefe da subseção de Meningite, Difteria e Miscelânea, passando em 1956 a Chefe da Seção de Sorologia e finalmente, aos 14 de setembro de 1977, a Diretor Técnico do Serviço de Microbiologia e Imunologia da Divisão de Biologia Médica do IAL.

Publicou vários trabalhos sobre temas bacteriológicos e imunológicos.

Aos 15 de outubro de 1949 contraiu núpcias com Terezinha de Souza Campos, filha do Prof. Dr. Ernesto de Souza Campos e de D. Celestina Brito de Souza Campos, tendo desse matrimônio três filhos, Manoel, Ernesto e Teresa Cristina.

A simpatia, a bondade, a firmeza de caráter, sua alegria irradiante, as expressões de típico sabor pernambucano com as quais marcava o seu linguajar, eram algumas de suas características marcantes. Nem o progredir da idade, nem mesmo a desgastante doença mudaram-no visceralmente.

Foi marido e pai extremoso, filho e irmão devotado, amigo sincero e sem reservas. Católico fervoroso, tinha a simplicidade de alma dos filhos adotivos do Senhor. Em suma, foi o verdadeiro amigo, como reza em Provérbios 18, 24: "Há amigos que servem simplesmente para fazer companhia mas também os há mais afeiçoados do que um irmão."

Marcelo Osvaldo Álvares Corrêa

INFECÇÃO INTRA-HOSPITALAR OCASIONADA POR BIORROTÍPO DE *SALMONELLA TYPHIMURIUM* LISINA DESCARBOXILASE NEGATIVA EM PRESIDENTE PRUDENTE, ESTADO DE SÃO PAULO *

Maria Regina Novaes Ramires ESPER **

Gil Vital Álvares PESSÓA ***

Marlene SPIR **

Chifumi Takeuchi CALZADA ***

Ruth Nobuko AMANO **

Aracelis Moreno de FREITAS **

RIALA6/503

ESPER, M.R.N.R.; PESSÓA, G.V.A.; SPIR, M.; CALZADA, C.T.; AMANO, R.N. & FREITAS, A.M. — Infecção intra-hospitalar ocasionada por biossorotipo de *Salmonella typhimurium* lisina descarboxilase negativa em Presidente Prudente, Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):77-82, 1980.

RESUMO: De outubro de 1977 a setembro de 1979 foram realizadas 1190 coproculturas, durante um surto epidêmico ocorrido em enfermaria de pediatria na cidade de Presidente Prudente, São Paulo. Foi analisado o encontro de 61 cepas de *Salmonella typhimurium* 05 negativa, que não descarboxilaram a lisina, em 148 linhagens de *S. typhimurim*. Na pesquisa do meio ambiente, durante o corte transversal, em duas oportunidades foi isolada *S. typhimurium* 05-, lisina descarboxilase negativa da bandeja de curativos e de colchonete de berço, bem como este biossorotipo foi isolado também de material da orofaringe de duas crianças. A grande resistência apresentada pela quase totalidade das cepas tanto LD- como LD+ aos antimicrobianos testados demonstra sua ligação ao ambiente hospitalar. É digno de nota que, ao término da pesquisa, o encontro de *S. typhimurium* continuava em níveis bastante elevados.

DESCRITORES: *Salmonella typhimurium*, biossorotipo lisina descarboxilase negativa; infecção cruzada por *Salmonella typhimurium*; infecção hospitalar; surto epidêmico de *S. typhimurium*.

INTRODUÇÃO

Na literatura especializada são extremamente raras as referências aos sorotipos de *Salmonella* lisina descarboxilase (LD) negativa. Assim CATSERAS & LE MINOR², em 1969, descreveram a ocorrência na França, em 1967, de biotipo de *Salmonella* LD- responsável por 16,7% do total de salmonelas isoladas.

É interessante o fato, relatado pelos autores, de serem os isolamentos provenientes de diversas regiões da França. Estes autores salientam o fato de ser a pesquisa de lisina descarbo-

xilase atualmente essencial no diagnóstico de *Salmonella* e, em revisão bibliográfica, demonstraram que, excetuando *Salmonella paratyphi* A, que é LD-, os outros sorotipos são sempre LD+.

PESSÓA *et alii*³, em 1978, relataram o encontro de 89 cepas de *S. typhimurium* LD- em 1.000 amostras de *S. typhimurium* isoladas. Todas as cepas pertenciam à variedade Copenhague (05-) e eram provenientes de vários hospitais de pediatria da cidade de São Paulo.

A introdução, em São Paulo, de *S. typhimurium* em ambiente hospitalar é recente, tendo

* Realizado no Laboratório I do Instituto Adolfo Lutz de Presidente Prudente, SP.

** Do Laboratório I do Instituto Adolfo Lutz.

*** Do Laboratório Central do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

sido relatado por TAUNAY *et alii*³, em 1971, o primeiro surto em três hospitais gerais com leitos de Pediatria, nos anos de 1968-69.

PESSÔA⁶, e PESSÔA *et alii*⁵ relataram o aparecimento de um biossorotipo de *S. typhimurium* 05— fermentador rápido da lactose, e demonstraram a sua origem nosocomial. Estes autores isolaram *S. typhimurium* em vários locais do ambiente hospitalar.

Em outubro de 1977 o isolamento de *S. typhimurium* de coproculturas provenientes de doentes de enfermaria de hospital geral e o concomitante isolamento de cepas LD—, fato raro na literatura consultada, levou-nos a avaliar a extensão do fenômeno, sendo então realizada também uma pesquisa do meio ambiente.

MATERIAL E MÉTODOS

De outubro de 1977 a setembro de 1979 foram examinadas fezes de 1190 crianças internadas na Enfermaria de Pediatria do Hospital Geral de Presidente Prudente, SP.

Em 5 de janeiro de 1978 foi feito "corte transversal" nessa enfermaria, quando foram coletadas amostras de fezes, naso e orofaringe de 29 crianças internadas, assim como 134 amostras do meio ambiente.

As amostras do meio ambiente foram coletadas pela técnica descrita por PESSÔA⁶; as de naso e orofaringe foram coletadas de acordo com a técnica descrita em BAPTISTA *et alii*⁷ e as de fezes foram coletadas por intermédio de "swab" anal e colocadas em tubos com solução salina tamponada e glicerizada¹²; após cerca de 60 minutos, foram semeadas em placas de ágar Mac Conkey e ágar *Salmonella* e *Shigella* (SS), sendo a seguir o "swab" transferido para o caldo selenito-novobiocina (SN). As culturas deste caldo foram mantidas em estufa a 37°C, por 24 horas e depois foram semeadas em placas de ágar SS. De cada placa, após o crescimento, cerca de 6 colônias fermentadoras ou não da lactose foram transferidas para o meio IAL* (PESSÔA & SILVA¹¹).

A partir dos tubos em que as reações bioquímicas eram compatíveis com *Salmonella*, foram realizadas reações de aglutinação com antissoros polivalentes e a seguir as cepas foram enviadas para a Seção de Bacteriologia do Laboratório Central do IAL para determinação dos sorotipos.

Foi utilizado o método de Bauer para a realização dos antibiogramas², tendo sido empregado ágar-Mueller-Hinton e discos de antibióticos nas seguintes concentrações:

| | |
|-----------------------|-------|
| Ampicilina (AM) | 10 µg |
| Amicacina (AN) | 10 µg |
| Ácido nalidixico (NA) | 30 µg |
| Cefaloridina (CR) | 30 µg |
| Colistina (CL) | 10 µg |
| Cloranfenicol (C) | 30 µg |

| | |
|--------------------|-------|
| Estreptomicina (S) | 10 µg |
| Gentamicina (GM) | 10 µg |
| Kanamicina (K) | 30 µg |
| Penicilina (P) | 10 µg |
| Tetraciclina (TE) | 30 µg |

RESULTADOS

De outubro de 1977 a setembro de 1979 foram realizadas 1190 coproculturas de crianças na faixa etária de zero a 12 meses de idade. Destas 1190 coproculturas foram isoladas 148 cepas de *S. typhimurium*, sendo que 147 pertenciam ao sorotipo 05— e uma cepa pertencia ao sorotipo 05+. Das 147 cepas 05—, 61 apresentaram LD negativa (tabela 1).

Na figura da página seguinte está relacionada a distribuição mensal dos biossorotipos LD— e LD+.

A tabela 2 mostra os resultados obtidos no dia do corte transversal, realizado em 5/1/78, quando foram isoladas, em 9 casos, cepas de *S. typhimurium* LD+ ou LD— de fezes ou de material da orofaringe.

Na tabela 3 estão os vários padrões de resistência aos antimicrobianos dos biossorotipos de *S. typhimurium* isolados. A cepa de *S. typhimurium* 05+ apresentou o esquema de resistência P, TE.

Durante a pesquisa do meio ambiente, foi isolada *S. typhimurium* do material de bandeja de curativos e de colchonete de berço; em ambos os casos a *S. typhimurium* era 05—, tendo apresentado o mesmo padrão de resistência aos antimicrobianos P, NA, AM, CR, S, K, C, TE.

CONCLUSÕES

Em Bacteriologia a pesquisa da lisina descarboxilase é considerada atualmente essencial no diagnóstico presuntivo da *Salmonella*, na rotina laboratorial, sendo que nos laboratórios onde sistemas como a utilização do meio IAL são empregados, esta pesquisa é fundamental para a diferenciação do gênero *Citrobacter*.

É digno de nota que, como descreve a figura (p. 79), as cepas LD— foram isoladas desde o início da pesquisa, configurando um surto epidêmico em relação às cepas LD+, pois este surto terminou sete meses antes do fim da pesquisa. A pequena duração do encontro de biossorotipo LD— parece ser devida a uma alteração fenotípica de origem plasmidiana.

A implicação do ambiente hospitalar na ocorrência dos casos é sugerida pelo encontro do biossorotipo tanto no ambiente como na bandeja de remédios e no colchonete de berço da Enfermaria de Pediatria e pelo fato de serem os isolamentos de *Salmonella*, em sua maioria, provenientes dos primeiros grupos etários (tabela 1). Este fato já foi descrito

* IAL = Instituto Adolfo Lutz.

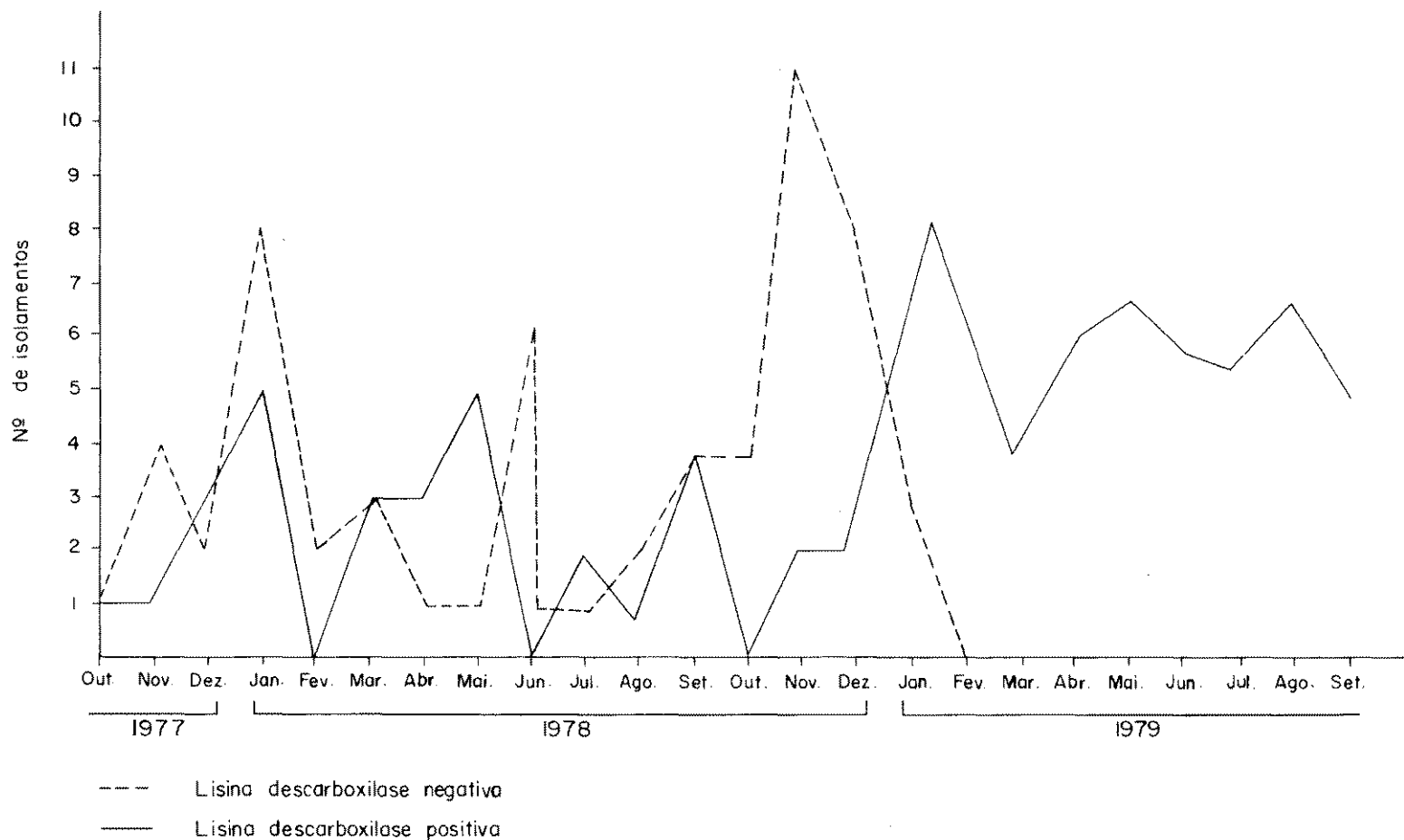


FIGURA — Freqüência mensal de amostras da variante lisina descarboxilase negativa de *Salmonella typhimurium* var. Copenhagen em relação às cepas lisina descarboxilase positiva isoladas de outubro de 1977 a setembro de 1979.

ESPER, M.R.N.R.; PESSOA, G.V.A.; SPIR, M.; CALZADA, C.T.; AMANO, R.N. & FREITAS, R.N.
 — Infecção intra-hospitalar ocasionada por biossorotipo de *Salmonella typhimurium* lisina descarboxilase negativa em Presidente Prudente, Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):77-82, 1980.

TABELA 1

Distribuição dos biossoro-tipos de *Salmonella typhimurium*, de coprocultura, por faixa etária

| Biossoro-tipos | LD* positiva | LD negativa | Faixa etária (anos) | | | | Idade desconhecida (meses) |
|---------------------------|--------------|-------------|---------------------|-------------|-------------|--------------|----------------------------|
| | | | 0 - 3 meses | 3 - 6 meses | 6 - 9 meses | 9 - 12 meses | |
| <i>S. typhimurium</i> 05+ | 1 | 0 | — | — | — | — | 1 |
| <i>S. typhimurium</i> 05- | 86 | 61 | 58 | 40 | 12 | 4 | 33 |

* LD = lisina descarboxilase.

ESPER, M.R.N.R.; PESSÓA, G.V.A.; SPIR, M.; CALZADA, C.T.; AMANO, R.N. & FREITAS, R.N.
 — Infeção intra-hospitalar ocasionada por biossoro-tipo de *Salmonella typhimurium* lisina descarboxilase negativa em Presidente Prudente, Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):77-82, 1980.

ESPER, M.R.N.R.; PESSÓA, G.V.A.; SPIR, M.; CALZADA, C.T.; AMANO, R.N. & FREITAS, R.N.
 — Infecção intra-hospitalar ocasionada por biossorotipo de *Salmonella typhimurium* lisina descarboxilase negativa em Presidente Prudente, Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):77-82, 1980.

TABELA 2

Distribuição, segundo idade e sexo dos pacientes, das cepas de *Salmonella typhimurium* var. Copenhagen LD positiva e LD negativa, isoladas de fezes e de secreção da orofaringe, durante o corte transversal

| N.º de casos | Idade | Sexo | Isolamento | |
|--------------|----------|------|-------------|------------------------|
| | | | fezes | secreção da orofaringe |
| 1 | 12 dias | F | LD negativa | LD negativa |
| 2 | 5 meses | M | LD positiva | cultura negativa |
| 3 | 2 meses | M | LD negativa | cultura negativa |
| 4 | 6 meses | M | LD negativa | cultura negativa |
| 5 | 3 meses | M | LD negativa | cultura negativa |
| 6 | 3 meses | F | LD positiva | cultura negativa |
| 7 | 2 meses | M | LD positiva | LD negativa |
| 8 | 10 meses | M | LD negativa | cultura negativa |
| 9 | 10 meses | F | LD negativa | cultura negativa |

Nota: a cultura da secreção nasal foi negativa em todos os casos.

TABELA 3

Padrões de resistência aos antimicrobianos dos biossorotipos de *Salmonella typhimurium* isolada de cultura de fezes, orofaringe e de meio ambiente

| Antimicrobianos | <i>Salmonella typhimurium</i> | | |
|------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | 0 5 negativa LD * positiva | 0 5 negativa LD negativa | 0 5 positiva LD positiva |
| P, TE | 0 | 0 | 1 |
| P, NA, TE | 1 | 0 | 0 |
| P, NA, AM, CR | 1 | 0 | 0 |
| P, NA, AM, CR, S, K, TE | 1 | 0 | 0 |
| P, NA, AM, CR, S, K, C | 2 | 0 | 0 |
| P, NA, AM, CR, S, K, GM | 0 | 1 | 0 |
| P, NA, AM, CR, S, K, C | 0 | 3 | 0 |
| P, NA, AM, CR, S, K, C, TE | 17 | 12 | 0 |
| P, NA, AM, CR, S, GM, C, TE | 0 | 12 | 0 |
| P, NA, AM, CR, S, K, C, TE, GM | 34 | 31 | 0 |
| P, NA, AM, CR, S, K, C, TE, CL, AN | 1 | 1 | 0 |
| P, NA, AM, CR, S, K, C, TE, GM, AN | 29 | 1 | 0 |
| Total | 86 | 61 | 1 |

* LD = lisina descarboxilase.

por vários autores em relação à *S. typhimurium*, em nosso meio^{6, 7, 9, 12}. Também é marcante o alto padrão de resistência aos antimicrobianos apresentado pela maioria dos biossorotipos de *S. typhimurium*, divididos em três grupos homogêneos de resistência: P, NA, AM, CR, S, K, C, TE; P, NA, AM, CR, S, K, C, TE, GM; P, NA, AM, CR, S, K, C, TE, GM, AN.

Em três ocasiões foram isoladas cepas de *S. typhimurium* sensíveis a praticamente todos os antimicrobianos. Estas, a nosso ver, podem ser consideradas selvagens. Fica bem claro que estes tipos de comportamento em relação à resistência divide estas 148 cepas em dois grupos: as adaptadas ao ambiente hospitalar, que

englobam a maioria, e aquelas que foram adquiridas em seu nicho ecológico.

A responsabilização das vias aéreas como porta de entrada e fonte de infecção está nos achados de orofaringe (tabela 2), ocorridos no dia do corte transversal.

É digno de nota que no término da pesquisa o encontro de *S. typhimurium* continuava em níveis bastante elevados.

Agradecimentos

Aos Drs. Irmael Reigota, Yogo Morita e José Vicente Scatena e às técnicas Srtas. Marlene Liberato Cafe e Marisa Menezes Romão pela colaboração prestada.

ESPER, M.R.N.R.; PESSÔA, G.V.A.; SPIR, M.; CALZADA, C.T.; AMANO, R.N. & FREITAS, R.N. — Infecção intra-hospitalar ocasionada por biossrotipo de *Salmonella typhimurium* lisina descarboxilase negativa em Presidente Prudente, Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):77-82, 1980.

RIALA6/503

ESPER, M.R.N.R.; PESSÔA, G.V.A.; SPIR, M.; CALZADA, C.T.; AMANO, R.N. & FREITAS, R.N. — Intrahospital infection caused by bioserotype of *Salmonella typhimurium* negative for lysine decarboxylase in Presidente Prudente, São Paulo State. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):77-82, 1980.

ABSTRACT: From October 1977 to September 1979, it were examined 1,190 stool specimens cultures during an epidemic outbreak ocured in paediatric ward in Presidente Prudente, São Paulo. In 148 strains of *Salmonella typhimurium*, it was found 61 *Salmonella typhimurium* 05- strains which resulted as negative for lysine decarboxylase. In the course of enviromental research in a transversal section, *Salmonella typhimurium* 05- with negative lysine decarboxylase was isolated in two opportunities, from curative tray and craddle mattress, and also this bioserotype was isolated from two children's oropharynx samples. The high resistance shown by almost all of strains, either LD- or LD+ to antimicrobials, demonstrate its correlation to hospital environment. It is worth to observe that at the end of this work, the finding of *Salmonella typhimurium* was still in very high levels.

DESCRIPTORS: *Salmonella typhimurium*, negative for lysine decarboxylase bioserotype; cross infection by *Salmonella typhimurium*; hospital infections; disease outbreaks.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAPTISTA, D.D.; HUTZLER, R.U.; PESSÔA, G.V.A.; VASCONCELOS, R.F.; CCORRADINI, H.B. & ULSON, C.M. — Bactérias aeróbias patogênicas Gram-negativas em berçário fechado. *Pediatr. práct.*, 45:181-8, 1974.
2. BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C. & TURCK, M. — Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. clin. Pathol.*, 45:493-6, 1966.
3. CATSERAS, M. & LE MINOR, L. — Apparition en France d'un biotype de *Salmonella panama* ne décarboxylant pas la lysine. *Ann. Inst. Pasteur Lille*, 20:159-62, 1969.
4. FALKOW, S. — Activity of lysine decarboxylase as an aid in the identification of Salmonellae and Shigellae. *Am. J. clin. Pathol.*, 29:598-600, 1958.
5. PESSÔA, G.V.A. — Contaminação por enterobactérias em berçários do Município de São Paulo. São Paulo, 1978. [Tese livre doc. — Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo] 85 p.
6. PESSÔA, G.V.A. — Sobre a ocorrência de uma variante de *Salmonella typhimurium* fermentadora da lactose. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 33:13-28, 1973.
7. PESSÔA, G.V.A.; HUTZER, R.U.; STAPE, D.D.B.; RAMOS, J.L.A.; VASCONCELOS, R.F. & ULSON, C.M. — Pesquisa de *Salmonella typhimurium* nas fezes de doentes internados em hospital geral e nas de seus contactantes. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 15:151-60, 1973.
8. PESSÔA, G.V.A.; IRINO, K.; MELLES, C.E.A.; CALZADA, C.T.; RASKIN, M. & KANO, E. — Ocorrência de bactérias enteropatogênicas em São Paulo no septênio 1970-76. II — O surto epidêmico de *Salmonella typhimurium* em São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38:107-127, 1978.
9. PESSÔA, G.V.A.; KANO, E.; CALZADA, C.T.; IRINO, K. & SIMONSEN, V. — Ocorrência em São Paulo de um biotipo de *Salmonella typhimurium* lisina descarboxilase negativa. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38:33-5, 1978.
10. PESSÔA, G.V.A. & PEIXOTO, E.S. — Caldo-selenito-novobiocina. Um meio de maior seletividade para o isolamento de *Salmonella* de fezes. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 31:1-3, 1971.
11. PESSÔA, G.V.A. & SILVA, E.A.M. — Milieu pour l'identification présumptive rapide des entérobactéries, des *Aeromonas* et des vibrions. *Ann. Microbiol.*, Paris, 125A:341-7, 1974.
12. SACHS, A. apud EDWARDS, P.R. & EWING, W.H. — *Identification of enterobacteriaceae*. 2nd ed. Minneapolis, Burgess publ., c1962.
13. TAUNAY, A.E.; NOVAES, J.R.C. & PESSÔA, G.V.A. — Infecções por enterobactérias no Município de São Paulo. Provável disseminação por via aérea. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 31:113-6, 1971.

Recebido para publicação em 18 de março de 1980.

A TRIPANOSOMÍASE AMERICANA E SUA TRANSMISSÃO TRANSFUSIONAL *

José Eduardo TOLEZANO **
Mirthes UEDA **
Heico MITSUKA **
Sérgio Márcio Pacheco PASCHOAL ***
Cleusa Regina de MORAES ***
Milton de Arruda MARTINS ***
Marco Aurélio Pereira LIMA ***

RIALA6/504

TOLEZANO, J.E.; UEDA, M.; MITSUKA, H.; PASCHOAL, S.M.P.; MORAES, C.R.; MARTINS, M. A.; LIMA, M.A.P. — A tripanosomíase americana e sua transmissão transfusional. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):83-88, 1980.

RESUMO: A partir da comprovação clínica, sorológica e parasitológica de mais um caso de transmissão da doença de Chagas por transfusão sangüínea, os autores fazem revisão dos casos registrados na literatura brasileira sobre a transmissão iatrogênica do *Trypanosoma cruzi*. Levantam-se hipóteses sobre a não consignação de maior número de casos de Chagas transfusional; são feitas também observações acerca dos métodos profiláticos para se evitar esta forma de transmissão da infecção.

DESCRITORES: tripanosomíase americana, profilaxia, sorodiagnóstico; *Trypanosoma cruzi*, dosagem de anticorpos; *T. cruzi*, isolamento; doença de Chagas; mal de Chagas.

INTRODUÇÃO

A epidemiologia da doença de Chagas vem sofrendo modificações substanciais desde a sua primeira e notável descrição como entidade nosológica¹². Os indivíduos suscetíveis habitualmente adquirem a infecção através da participação de triatomíneos².

Segundo CERISOLA *et alii*⁷, na Argentina Mazza *et alii*, em 1936, chamaram a atenção pela primeira vez sobre a possibilidade de ser esta enfermidade transmitida por transfusão sangüínea. No Brasil, em 1945, DIAS⁵ foi o

primeiro a recomendar que se excluíssem candidatos a doadores de sangue que fossem portadores desta parasitose. PELLEGRINO¹⁸, em 1949, foi quem primeiro comprovou a presença de doadores chagásicos em bancos de sangue de Belo Horizonte. Com a descrição de FREITAS *et alii*¹¹, em 1952, dos dois primeiros casos comprovados da transmissão transfusional da doença de Chagas, inicia-se o período em que mais alguns casos de tripanosomíase americana com este tipo de transmissão foram registrados.

BRENER⁶ coloca a transfusão de sangue no segundo lugar em importância para a trans-

* Realizado na Clínica Médica do Hospital das Clínicas da FMUSP, São Paulo, SP e no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

Apresentado no 5.º Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, realizado no Rio de Janeiro, de 26 a 29 de fevereiro de 1980.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Do Hospital das Clínicas de São Paulo.

missão da enfermidade. Em certas regiões a prevalência desta moléstia entre os possíveis doadores de sangue tem chegado até 20%, dando-se o caso em que pacientes que receberam sangue de doadores chagásicos se infectaram numa proporção de 13 a 23%^{4, 7, 14}.

Sabe-se que em 60% dos bancos de sangue não tem lugar qualquer seleção de doadores². No Brasil, são efetuados cerca de 4 milhões de transfusões, sendo que só em São Paulo se realizam aproximadamente 500 mil em cada ano. Se considerarmos que 2% do sangue utilizado procede de doadores chagásicos⁵, e que a transmissão ocorre na proporção de 1:5 até 1:8 nos pacientes que receberam estas transfusões², teremos um total de 10 mil a 16 mil novos casos por ano no Brasil, dos quais cerca de 1.500 seriam em São Paulo.

A partir da comprovação clínica, sorológica e parasitológica de mais um caso de transmissão de *Trypanosoma cruzi* através de transfusão sanguínea, e dos fatos acima relatados, foi feita uma revisão dos casos registrados na literatura brasileira (tab. 1, p. 9) em que a transmissão ocorreu por esta via. São levantadas também algumas razões da não consignação de mais casos comprovados de transmissão transfusional da doença de Chagas, assim como são relatados também os métodos profiláticos existente atualmente, a fim de ser evitada esta forma de transmissão.

DESCRIÇÃO DO CASO

Dados pessoais: P.J.L., 54 anos, sexo masculino, solteiro, branco, zelador, natural da Bahia, residente há três anos em São Paulo.

Primeira internação: 8/3/79 a 13/4/79. O paciente apresentava-se com história de palidez e anemia havia oito meses. A internação apresentava quadro de insuficiência cardíaca congestiva, anemia, e ausculta de insuficiência aórtica. Suspeitou-se de endocardite, mas várias hemoculturas foram negativas. Concomitantemente investigou-se a causa da anemia hipocrômica microcítica e concluiu-se que era uma anemia sideroblástica. As reações sorológicas de fixação do complemento e de imunofluorescência indireta para moléstia de Chagas mostraram-se negativas. Teve alta no dia 13/4/79. Após dez dias, suspendeu a medicação e voltou a apresentar edema dos membros inferiores e aumento de volume abdominal. Procurou o Pronto Socorro do Hospital das Clínicas de São Paulo onde recebeu um litro de sangue total.

Segunda internação: 24/5/79, procurou o Pronto Socorro e lhe prescreveram nova transfusão, tendo sido internado para continuar a investigação da anemia. Recebeu durante esta segunda internação duas unidades de papa de glóbulos no dia 7/6/79 e um litro de sangue total no dia 3/7/79.

Terceira internação: 2/8/79, história de três dias de febre vespertina, calafrios à noite e cefaléia frontal diária. Ao exame físico, estava

regular, emagrecido, descorado (+++), icterico (++), com edema dos membros inferiores, afebril, micropoliadenopatia cervical, com insuficiência cardíaca congestiva (I. aórtica), esplenomegalia (1cm do rebordo costal esquerdo, baço duro). Apresentou picos febris diários. Suspeitou-se de endocardite, mas várias hemoculturas foram negativas. Biopsia de gânglio mostrou linfadenite crônica. Apresentava os dados laboratoriais constantes da tabela 2.

O paciente teve morte súbita em casa, 20 dias após a alta. Não foi realizada necropsia.

DISCUSSÃO

A transmissão transfusional da doença de Chagas, nas grandes cidades, tem importância crescente na atualidade, originada de condicionantes sociais. A própria precariedade de vida nas áreas endêmicas cria um mecanismo de pressão interna, que gera contínua saída, dos centros urbanos, de pessoas em busca de melhores condições (emprego, saúde, estudo)⁶. Via de regra, esses migrantes acabam não alcançando seus objetivos iniciais e muito comumente tornam-se "doadores profissionais", fazendo da doação de seu próprio sangue um subemprego.

PAULA¹⁷, em 1978, ao inquirir 239 unidades de saúde de Minas Gerais, encontrou em apenas três dessas unidades médicos que sabiam da existência da transmissão transfusional em seus municípios, sendo que o restante revelou total desconhecimento acerca do problema.

Sem dúvida este desconhecimento tem como uma das principais causas o fato de serem raramente registrados os casos comprovados de transmissão transfusional, dando-se assim uma falsa idéia de não acontecimento desta forma de transmissão, mesmo em se considerando que a moléstia de Chagas na fase aguda se enquadra entre as moléstias de notificação compulsória no Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica.

Assim sendo, buscamos enumerar algumas razões do não registro de um maior número de casos da tripanosomíase americana em que a transmissão se deu por transfusão de sangue^{2, 3, 9, 10}:

- Falta de interesse por parte dos hemoterapeutas em comprovar casos de transmissão transfusional.
- Desinteresse intencional na comunicação de acidentes transfusionais.
- Não estabelecimento de nexos entre determinado quadro clínico em fase de elucidação diagnóstica e prévio tratamento hemoterápico.
- Dificuldade de comunicação através de publicações científicas.
- Número significativo de casos de transmissão totalmente assintomáticos ou pauci-sintomáticos.

TOLEZANO, J.E.; UEDA, M.; MITSUKA, K.; PASCHOAL, S.M.P.; MORAES, C.R.; MARTINS, M.A.; LIMA, M.A.P. — A tripanosomíase americana e sua transmissão transfusional. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):83-88, 1980.

TABELA 1

Casos registrados na literatura sobre a transmissão transfusional da doença de Chagas no Brasil*

| Ano | Autor | Local | N.º de casos |
|-------|----------------------------|------------------------------------|--------------|
| 1952 | FREITAS <i>et alii</i> | São Paulo — SP | 2 |
| 1955 | NUSSENZWEIG <i>et alii</i> | São Paulo — SP | 1 |
| 1958 | AMATO NETO | São Paulo — SP | 6 |
| 1963 | AMATO NETO <i>et alii</i> | São Paulo — SP | 1 |
| 1966 | COURA | Rio de Janeiro — RJ | 3 |
| 1967 | RODRIGUES | Rio de Janeiro — RJ | 1 |
| 1969 | AMATO NETO <i>et alii</i> | Goiânia — GO e São Paulo — SP | 4 |
| 1971 | FERREIRA & RASSI | São Paulo — SP e Minas Gerais — MG | 8 |
| 1974 | CAMARGO & LESER | São Paulo — SP | 2 |
| 1975 | AMATO NETO <i>et alii</i> | São Paulo — SP | 10 |
| 1975 | BECKER | São Paulo — SP | 1 |
| 1975 | FERREIRA | Triângulo Mineiro — MG | 8 |
| 1975 | BALDY <i>et alii</i> | Londrina — PR | 3 |
| 1977 | CANÇADO | Minas Gerais — MG | 5 |
| 1977 | BRASIL | Minas Gerais — MG | 1 |
| 1977 | PRATA & MACHADO | Bahia — BA | 6 |
| 1977 | CAMARGO | São Paulo — SP | 13 |
| Total | — | — | 75 |

* Adaptado de DIAS, J.C.P. & DIAS, R.B.¹⁰.

TABELA 2

Resultados dos exames laboratoriais do paciente P.J.L.

| Data | Exame laboratorial | Resultados |
|-----------|--|--|
| 4-9-79 | Reação de fixação de complemento para Chagas | 1:64* — 1:4** |
| 4-9-79 | Reação de imunofluorescência indireta para Chagas (Ig total) | 1:160* — 1:40** |
| 4-9-79 | Reação de imunofluorescência indireta para Chagas (IgM) | 1:40* — 1:40** |
| 4-9-79 | Reação de hemaglutinação passiva para Chagas | 1:320* — 1:20** |
| 4-9-79 | Reação de floculação para Chagas | pos. (++++)* — pos. (+)** |
| 4-9-79 | Reação de Paul-Bunnell & Davidson | 1.ª fase = 1:896* — 2.ª fase = 1:56*** |
| 4-9-80 | Reação de imunofluorescência indireta para toxoplasmose (Ig total) | 1:1024* |
| 24-8-79 | Pesquisa de <i>Trypanosoma cruzi</i> no sangue circulante | Positiva |
| set./1979 | Culturas em meio NNN e em meio de Ducrey | Positivas para formas tripomastigotas de <i>T. cruzi</i> |

* Reação sorológica realizada com soro não absorvido.

** Reação sorológica realizada com soro absorvido com proteína A de *Streptococcus aureus* (Cowan I).

*** Reação sorológica com absorção do soro na 2.ª fase da reação, com rim de cobaia.

— Dificuldades técnicas ou incompetência quanto à realização do diagnóstico da doença de Chagas.

Ocorrência eventual de longo período de incubação.

— Mercantilização em bancos de sangue.

Segundo DIAS & DIAS¹⁰, a ocorrência da doença de Chagas dentro dos hospitais metropolitanos é, em geral, um importante indicador da qualidade da atenção médica para com os pacientes.

Desde a descrição dos primeiros casos de transmissão transfusional, e mesmo antes desta época, diversos autores têm procurado e apontado várias medidas profiláticas.

DIAS⁹, em 1945 e PELLEGRINO¹⁰, em 1949, pediam que fosse obrigatória a realização da reação de fixação de complemento para o diagnóstico da doença de Chagas na seleção de doadores de sangue, excluindo todos aqueles que apresentassem reações duvidosas ou positivas. Outros autores, ao testarem esta reação por duas vezes em 452 soros de doadores, obtiveram 427 (94,4%) resultados concordantes e 25 (5,53%) resultados discordantes; em vista da ocorrência de resultados não concordantes, em quantidade expressiva de casos, sugeriram a utilização de reações de imunofluorescência indireta e hemaglutinação passiva na triagem de doadores em bancos de sangue⁹.

A partir de 1952, quando foram descritos os dois primeiros casos em que se comprovou a possibilidade de ser o *T. cruzi* transmitido pela via transfusional¹¹, diversos trabalhos foram realizados na tentativa de se encontrar algum agente físico ou químico que pudesse ser utilizado na prática preventiva desta forma de transmissão. Para que isto ocorresse, seria necessário que este agente tivesse elevado poder tripanosomicida nas condições habituais em que o sangue seria conservado em bancos de sangue, tivesse toxicidade reduzida nas doses consideradas profiláticas, e não afetasse as qualidades do sangue conservado¹².

NUSSENZWEIG *et alii*¹⁰ depois de testarem diversas drogas, encontraram na violeta de genciana um agente que preenchia todos esses requisitos pois, quando dissolviam este corante em soro glicosado isotônico recentemente preparado e utilizado no sangue, numa concentração de 1:5.000, obtinham desta droga poder tripanosomicida. O tempo de ação de 24 horas mostrou-se suficiente para esterilização do sangue nesta concentração.

RASSI & REZENDE¹⁰, em 1975, citam dois bancos de sangue em Minas Gerais que, utilizando por mais de dois anos a violeta de genciana como droga profilática, obtiveram excelentes resultados, eliminando assim a necessidade de reações sorológicas para triagem de doadores.

A baixa toxicidade deste corante foi demonstrada por REZENDE *et alii*¹⁰, em 1965, que acompanharam 774 pacientes que receberam transfusões de sangue tratado com a violeta

de genciana ou cristal de violeta ao sangue, dada em um único paciente foi de 36.000 ml em 74 transfusões, no período de seis meses, e a quantidade máxima transfundida de uma só vez, em um único paciente, foi de 4.000 ml. Todos os pacientes que haviam recebido transfusões de sangue tratado com violeta de genciana, que por diversas razões vieram a falecer, foram necropsiados, não se constatando impregnações de tecidos, flebites, ou outras alterações imputáveis ao corante.

CAMPOS *et alii*⁹ aconselham a adição de violeta de genciana a qualquer tipo de sangue de doadores provenientes de área endêmica, destinado a transfusão; também recomendam o uso deste corante em sangue de doadores com antecedentes epidemiológicos, mesmo que estes não residam em área endêmica.

Segundo KLOETZEL¹⁰, o cristal de violeta pode substituir com vantagem a violeta de genciana como agente profilático pois, enquanto esta última é corante de composição variável de fabricante para fabricante, aquele é composto bem definido.

Em razão da recusa da adição de violeta de genciana ao plasma sanguíneo a ser transfundido, não por motivo de ordem médica mas pelo fato de adquirir o material uma cor azulada, foi experimentada a liofilização do plasma, que eliminou o *T. cruzi* deste constituinte sanguíneo¹.

Várias drogas e outros métodos têm sido testados, porém não preenchem os requisitos de elevado poder tripanosomicida, baixa toxicidade e manutenção das qualidades do sangue conservado.

CONCLUSÕES

Existe hoje tendência à "urbanização" da doença de Chagas, pois as migrações internas de grandes contingentes de portadores da infecção, que se estabelecem na periferia das Capitais, está cada vez maior.

A transmissão transfusional do *T. cruzi* pode e deve ser prevenida, seja através da triagem de candidatos a doadores, mediante a utilização de reação de fixação de complemento, imunofluorescência indireta, hemaglutinação passiva, ou através da adição da violeta de genciana; a quantidade máxima transfundida na concentração de 1:5.000, no período de 24 horas antes da transfusão, ou mesmo, quando possível, através da liofilização do plasma. Todavia devem ser pesquisadas novas drogas profiláticas incolores, solúveis, atóxicas, e econômicas, assim como novos métodos devem ser testados em busca de prevenção da transmissão transfusional deste parasita.

Finalmente, recomendamos ao Sistema Nacional de Saúde Pública que mantenha severa vigilância sanitária em bancos de sangue, tomando sempre que necessário medidas adequadas, seja através de orientação, de advertência, ou mesmo de medidas mais drásticas.

RIALA6/504

TOLEZANO, J.E.; UEDA, M.; MITSUKA, H.; PASCHOAL, S.M.P.; MORAES, C.R.; MARTINS, M.A.; LIMA, M.A.P. — American trypanosomiasis and its transmission by transfusion. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):83-88, 1980.

ABSTRACT: Based on clinical, serological and parasitological comprovation of another one case of Chagas' disease transmission from blood transfusion, the authors present a review on iatrogenic transmission of *Trypanosoma cruzi* recorded in Brazilian scientific publications. Hypothesis are presented to explain the lack of registration of the majority of transfusional cases of Chagas' disease, and also observations are considered about efficient prophylactic methods to avoid this transmission form of infection.

DESCRIPTORS: trypanosomiasis, South American, prophylaxis, serodiagnosis; *Trypanosoma cruzi*, antibody dosage; *Trypanosoma cruzi*, isolation; Chaga's disease.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMATO NETO, V. — Doença de Chagas e transfusão de sangue. *Rev. paul. Med.*, 80:253-4, 1972.
2. AMATO NETO, V. — Transmissão por transfusão de sangue. In: CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE DOENÇA DE CHAGAS, Rio de Janeiro, 1979. *Anais*. [Rio de Janeiro, Inst. Oswaldo Cruz, s.d.] p. H-20 — H-23.
3. AMATO NETO, V.; LEONHARDT, H. & SOUZA, H.B.W.T. — Liofilização do plasma: medida capaz de evitar a transmissão da doença de Chagas em bancos de sangue. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 8: 122-4, 1966.
4. AMATO NETO, V.; MOLINARI, H.E.; SIQUEIRA, A.F. & LUCAS, R.S. — Análise por meio da reação de fixação de complemento, do risco de aquisição da doença de Chagas através de hemoterapia, por parte de pacientes politransfundidos. *Rev. goiana Med.*, 21:1-9, 1975.
5. BRENER, Z. — Simposio sobre nuevos enfoques en la investigacion de la tripanosomiasis americana. *Bol. Of. sanit. panam.*, 83:106-18, 1977.
6. CAMPOS, C.; REZENDE, J.M. & RASSI, A. — Prevalência da doença de Chagas no banco de sangue do Hospital das Clínicas de Goiânia. Possibilidade de falha da reação de Machado e Guerreiro na seleção de doadores. *Rev. Soc. bras. Med. trop.*, 9:165-74, 1975.
7. CERISOLA, J.A.; RABINOVICH, A.; ALVAREZ, M.; DI CORLETO, C.A. & PRUNEDA, J. — Enfermedad de Chagas y la transfusion de sangre. *Bol. Of. sanit. panamer.*, 73:203-21, 1972.
8. DIAS, E. — *Um ensaio de profilaxia da moléstia de Chagas*. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, 1945. 116 p.
9. DIAS, J.C.P. — Mecanismos de transmissão. In: BRENER, Z. & ANDRADE, Z. — *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1979. p. 152-74.
10. DIAS, J.C.P. & DIAS, R.B. — Doença de Chagas — uma visão sócio-econômica e cultural. In: CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE DOENÇA DE CHAGAS, Rio de Janeiro, 1979. *Anais*. [Rio de Janeiro, Inst. Oswaldo Cruz, s.d.] p. XIV-xxxv.
11. FREITAS, J.L.P.; AMATO NETO, V.; SONNTAG, R.; BIANCALANA, A.; NUSSENZWEIG, V. & BARRETO, J.G. — Primeiras verificações de transmissão acidental da moléstia de Chagas ao homem por transfusão de sangue. *Rev. paul. Med.*, 40: 36-40, 1952.
12. GOLDBAUM, M. — Aspectos sócio-econômicos da doença de Chagas. In: CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE DOENÇA DE CHAGAS, Rio de Janeiro, 1979. *Anais*. [Rio de Janeiro, Inst. Oswaldo Cruz, s.d.] p. H-10—H-13.
13. KLOETZEL, J. — Estudo comparativo da ação tripanossomicida "in vitro" da violeta de genciana e do cristal violeta. Primeiros ensaios com emprego do verde de metila. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 3:254-60, 1961.
14. NUSSENZWEIG, V.; AMATO NETO, V.; FREITAS, J.L.P.; NUSSENSWEIG, R.S. & BIANCALANA, A. — Moléstia de Chagas em bancos de sangue. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. Univ. S. Paulo*, 10:265-83, 1955.
15. NUSSENZWEIG, V.; BIANCALANA, A.; AMATO NETO, V.; SONNTAG, R.; FREITAS, J.L.P. & KLOETZEL, J. — Ação da violeta de genciana sobre o *T. cruzi* in vitro: sua importância na esterilização do sangue destinado à transfusão. *Rev. paul. Med.*, 42:57-8, 1953.

16. NUSSENZWEIG, V.; SONNTAG, R.; BIANCALANA, A.; FREITAS, J.L.P.; AMATO NETO, V. & KLOETZEL, J. — Ação de corantes tri-fenil-metânicos sobre o *Trypanosoma cruzi* "in vitro": emprego da violeta de genciana na profilaxia da transmissão da moléstia de Chagas por transfusão de sangue. *Hospital*, Rio de J., 44: 731-44, 1953.
17. PAULA, A.S.V. apud DIAS, J.C.P. & DIAS, R.B.¹⁰.
18. PELLEGRINO, J. — Transmissão da doença de Chagas pela transfusão de sangue: primeiras comprovações sorológicas em doadores e em candidatos a doadores de sangue. *Rev. bras. Med.*, 6:297-301, 1949.
19. RASSI, A. & REZENDE, J.M. — Prevention of transmission of *T. cruzi* by blood transfusion. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NEW APPROACHES IN AMERICAN TRYPANOSOMIASIS RESEARCH, Belo Horizonte, 1975. *Proceedings*. Washington, Pan American Health Organization, 1976. p. 273-8. (Scient. publ. n.º 318)
20. REZENDE, J.M.; ZUPELLI, W. & BAFUTTO, M.G. — O problema da transmissão da doença de Chagas por transfusão de sangue. Emprego da violeta de genciana como medida profilática. *Rev. goiana Med.*, 11:35-47, 1965.

Recebido para publicação em 7 de abril de 1980.

IMPORTANCIA DAS PLANTAS ORNAMENTAIS DOS AQUÁRIOS COMO VEÍCULOS DE PROPAGAÇÃO DE VETORES DE *SCHISTOSOMA* *MANSONI* *

Lúcia de Lacerda CORRÊA **
Marcelo Osvaldo Álvares CORRÊA **
Jorge Faria VAZ ***
Maria Ivani P. Gonçalves da SILVA **
Rita Maria da SILVA **
Maria Terumi YAMANAKA **

RIALA6/505

CORRÊA, L.L.; CORRÊA, M.O.A.; VAZ, J.F.; SILVA, M.I.P.G.; SILVA, R.M.
& YAMANAKA, M.T. — Importância das plantas ornamentais dos aquários
como veículos de propagação de vetores de *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst.*
Adolfo Lutz, 40(2):89-96, 1980.

RESUMO: Em 1970, CORRÊA *et alii* comprovaram a introdução de *Biomphalaria straminea* em São Paulo, através de peixes provenientes do Amazonas e Ceará, que foram colocados em tanques de criação em Barra Bonita e Americana em São Paulo. Este fato e a introdução, na Austrália, de vetores de *Schistosoma mansoni* através da importação de aquários de Hong-Kong, levaram os autores a pesquisar aquários comercializados na cidade de São Paulo, Brasil. Os peixes ornamentais desta pesquisa provêm do exterior, do Norte e do Nordeste do Brasil e as plantas aquáticas, de várias regiões do país. Foram visitadas onze lojas do ramo e, em nove, foi comprovada a existência de vetores de *S. mansoni*; *B. straminea*, o mais importante vetor do Nordeste, foi encontrado em oito lojas e *B. tenagophila*, em três. Em face da permanente imigração de nordestinos para o Estado de São Paulo, e da atual expansão da esquistossomose mansoni avulta o interesse no encontro de novos mecanismos de dispersão de planorbídeos, a exigir adequadas medidas de vigilância epidemiológica.

DESCRITORES: *Biomphalaria* sp., dispersão através de aquários; *Schistosoma mansoni*, vetores; esquistossomose, São Paulo, Brasil; *Biomphalaria straminea* no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil.

Em 1970, CORRÊA *et alii*¹ comprovaram a introdução de *Biomphalaria straminea* em tanques de criação de peixes das estações de piscicultura de Barra Bonita e Americana, em São Paulo, através da importação de peixes

do Amazonas e Ceará, estados em que o referido planorbídeo se constitui no principal transmissor da esquistossomose mansoni. Em 1973, a *B. straminea* foi identificada no Vale de Lam Chung, Hong-Kong, por MEIER-BROOK²,

* Realizado no Setor de Esquistossomose do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Da Superintendência do Controle de Endemias, São Paulo, SP.

sendo aventada a possibilidade de ter sido esse planorbídeo transportado para lá juntamente com plantas aquáticas importadas para ornamentar aquários. Sendo Hong-Kong freqüentado por numerosos turistas, muitos dos quais provenientes de zonas endêmicas de esquistossomose mansoni, haveria real perigo na introdução dessa parasitose no Sudeste da Ásia. Alguns anos mais tarde foi revelada a introdução, na Austrália, de vetores de *Schistosoma mansoni* através de importação de aquários provenientes de Hong-Kong.

Tais eventos levaram-nos a pesquisar, sob este enfoque, os aquários de peixes comercializados na cidade de São Paulo, oferecidos à aquisição pública em lojas adequadas.

Até o presente momento visitamos 11 lojas, com o seguinte resultado: em 8 lojas encontramos aquários com *Biomphalaria straminea* (fig. 1 e 2), onde 281 exemplares foram coletados; em 2 destas lojas encontramos também *B. tenagophila* (92 exemplares). Em uma outra loja, a 9.^a, encontramos 16 exemplares de *B. tenagophila* em seus aquários e, finalmente, na 10.^a e 11.^a lojas coletamos somente exemplares de *Ampullaria* sp., pois a água dos aquários tinha sido renovada momentos antes, porém, recebemos a informação de que o aparecimento dos planorbídeos nos aquários era freqüente. Outros moluscos coletados foram *Lymnaea* sp. (38 exemplares), *Physa* sp. (67), *Helisoma* sp. (18) e *Aylacostoma* sp. (11).

Os aquários, via de regra, contêm peixes e plantas ornamentais destinadas a prover a oxigenação da água e é através destas plantas que os planorbídeos são introduzidos neles (fig. 3 e 4). As plantas mais usadas são a elódea, a valisnéria, a cabomba, a samambaia-de-água, a amazonense, a criptocorina e a sagitária.

As plantas e os peixes ornamentais provêm do Norte e Nordeste do Brasil e de diferentes localidades do Estado de São Paulo; apenas determinados peixes provêm do exterior. Algumas lojas dispõem de fornecedores de peixes e plantas aquáticas; em outras, os proprietários dispõem de chácaras ou sítios próprios dotados de tanques de criação de peixes, localizados nos municípios vizinhos da Capital, no interior ou no litoral de São Paulo.

Temos encontrado muita dificuldade em estabelecer contato com os fornecedores de peixes e plantas ornamentais, em face das restrições opostas pelos proprietários das lojas. Entretanto, encontramos compreensão e recebemos colaboração de um dos maiores fornecedores do ramo, o qual dispõe, ademais, de

loja própria e de um sítio no município de Juquiá, em São Paulo, onde existem amplas instalações para a criação de peixes ornamentais.

Visitando o referido sítio constatamos a presença de enorme quantidade de *B. straminea* e de *B. tenagophila*, esta em menor escala, em seus criadouros de peixes e de plantas ornamentais, os quais são constituídos por pequenos lagos, escavados no solo (fig. 5 e 6), dispostos em níveis diferentes, em grande número, e irrigados por meio de canalizações adequadas, de tal maneira que a água recebida de um riacho, depois de irrigar os diferentes lagos, é lançada de volta ao mesmo riacho que contorna a região dos pequenos lagos, indo lançar-se mais adiante no rio Juquiá-açu que é afluente do rio Ribeira de Iguape. Coletamos nesses lagos mais de 300 exemplares de *B. straminea* e 42 exemplares de *B. tenagophila* (fig. 7).

Foi esta a primeira vez em que foi encontrada a *B. straminea* no Vale do Ribeira. Até então, de acordo com RAMOS *et alii*⁶, a *B. tenagophila* era a única espécie vetora de *S. mansoni* encontrada nessa região.

Por ocasião de chuvas intensas e conseqüente aumento do volume do riacho irrigador, os pequenos lagos transbordam e suas águas carreiam com a maior facilidade exemplares da fauna malacológica. Em meados de fevereiro de 1980, Juquiá foi atingido por verdadeira tromba d'água, caracterizada por precipitação pluviométrica de 240 mm em cerca de 12 horas, a qual arrasou totalmente os criadouros de peixes do sítio que visitamos.

PARAENSE^{3, 4, 5} afirma que: "A *B. straminea* é uma espécie altamente bem sucedida, vivendo em habitats permanentes e temporários e adaptando-se perfeitamente a todas as variedades de clima do Brasil. Sua ausência na zona temperada meridional não resulta de mera influência climática, visto como também ela ocorre na província de Buenos Aires, Argentina, que pertence à mesma zona de clima temperado chuvoso (Koeppen). Apesar de ser muito menos suscetível à infecção por *S. mansoni*, a *B. straminea* é mais importante que a *B. glabrata* como vetora da esquistossomose no Nordeste do Brasil, devido não só à sua distribuição muito mais ampla como também à sua associação com altos índices de infecção humana".

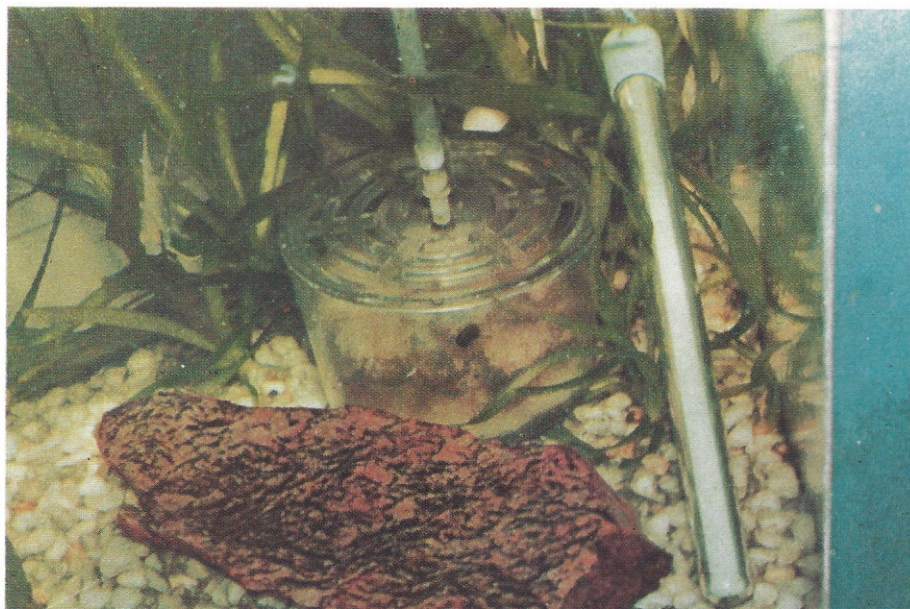
Em face da permanente migração de nortadinos para o Estado de São Paulo e da atual expansão da esquistossomose mansoni, avulta o interesse no encontro de novo mecanismo de dispersão de planorbídeos, a exigir adequadas medidas de vigilância epidemiológica.



FIGURA 1 — Aquário com exemplar de *Biomphalaria straminea*.



FIGURA 2 — *Biomphalaria straminea* na parede de vidro de aquário.



FIGURAS 3 e 4 — Aquários de peixes ornamentais com planorbídeos.



FIGURAS 5 e 6 — Pequenos lagos encravados no solo constituindo-se em criadouros de planorbídeos.



FIGURA 7 — Coleta de exemplares de planorbídeos.



FIGURA 8 — *Biomphalaria straminea* encontrada no Vale do Ribeira, Estado de São Paulo.

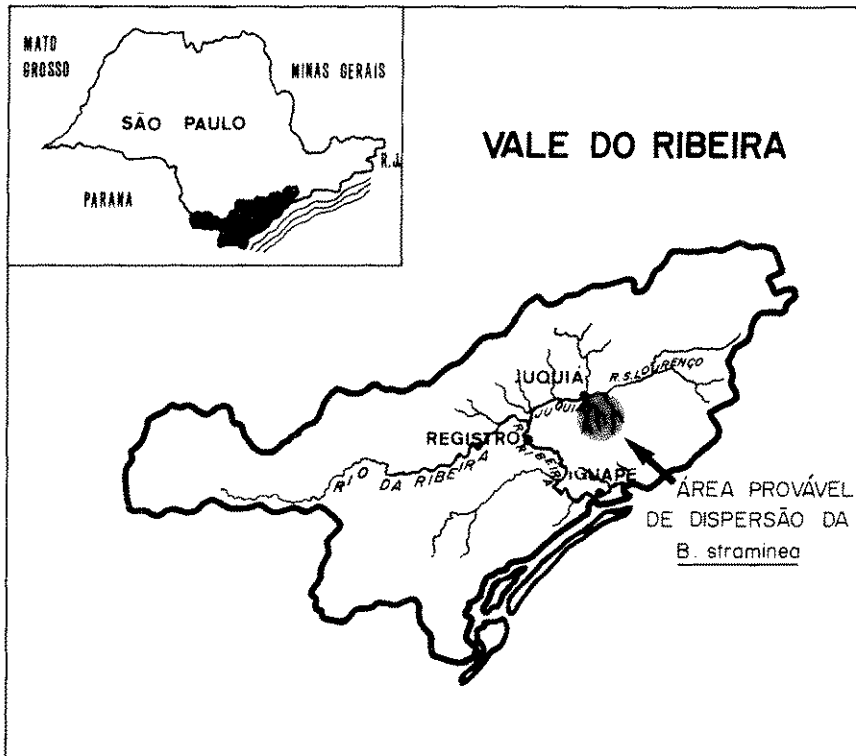


FIGURA 9 — Região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo.

RIALA6/505

CORRÊA, L.L.; CORRÊA, M.O.A.; VAZ, J.F.; SILVA, M.I. P.G.; SILVA, R.M. & YAMANAKA, M.T. — The importance of ornamental plants of aquaria as vehicles of *Schistosoma mansoni* vectors propagation. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):89-96, 1980.

ABSTRACT: In 1970, CORRÊA *et alii* evidenced the introduction of *Biomphalaria straminea* in São Paulo through fishes proceeding from Amazonas and Ceará, which were placed into ponds of breeding in Barra Bonita and Americana, São Paulo. Because of this fact and according to the previous surveys about the introduction of *Schistosoma mansoni* vectors in Australia, through importation of aquaria from Hong-Kong, the authors regarded to search the aquaria commercialized in São Paulo city, Brazil. The ornamental fishes studied in this work proceed from abroad and northeastern Brazil, and the aquatic plants from several areas of country. It were visited eleven special branch shops and it was evidenced the existence of *Schistosoma mansoni* vectors in nine of them; *B. straminea*, the most important vector in northeast area was found in eight shops and *B. tenagophila* in three. In view of the constant immigration of northeastern people to São Paulo, and the present expansion of Manson's schistosomiasis increases the interest in finding new mechanisms for planorbids dispersion, to demand proper measures of epidemiological vigilance.

DESCRIPTORS: *Biomphalaria* sp., dispersion through aquaria; *Schistosoma mansoni*, vectors; schistosomiasis, São Paulo, Brazil; *Biomphalaria straminea* in Vale do Ribeira, São Paulo, Brazil.

CORRÊA, L.L.; CORRÊA, M.O.A.; VAZ, J.F.; SILVA, M.I.P.G.; SILVA, R.M. & YAMANAKA, M.T. — Importância das plantas ornamentais dos aquários como veículos de propagação de vetores de *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):89-96, 1980.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CORRÊA, R.R.; MURGEL, G.M.T.; PIZA, J.T.; RAMOS, A.S.; DIAS, L.C.S.; MORAES, L.V.C. & ROSÁRIO, F.F. — Dispersão de *Biomphalaria straminea*, hospedeira intermediária do *Schistosoma mansoni*, através da distribuição de peixes. *Rev. Saúde Pública*, 4:117-27, 1970.
2. MEIER-BROOK, C.M. — A snail intermediate host of *Schistosoma mansoni* introduced to Hong-Kong. Geneva, WHO, s.d. (WHO/SCHISTO/75.37)
3. PARAENSE, W.L. — The distribution of the molluscan vectors of schistosomiasis in the Americas. *Brasília méd.*, 11:11-14, 1975.
4. PARAENSE, W.L. — Estado atual da sistemática dos planorbídeos brasileiros (Mollusca, Gastropoda). *Arg. Mus. nat. Rio de J.*, 55:105-128, 1975.
5. PARAENSE, W.L. — Fauna planorbídica do Brasil. In: LACAZ, C.S.; BARUZZI, R.G. & SIQUEIRA JR., W. — *Introdução à geografia médica do Brasil*. São Paulo, Edgard Blücher/EDUSP, 1972. p. 213-39.
6. RAMOS, A.S.; PIZA, J.T.; PINTO, G.E.; TION, T.; FLEURY, G.C.; MORAES, L.V.C. & CAMPOS, L.L. — Focos ativos de esquistossomose mansoni no Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Pública*, 3:59-65, 1969.

Recebido para publicação em 6 de junho de 1980.

ACTINOMICOSE APENDICULAR. ESTUDO ANATOMO-CLÍNICO DE UM CASO *

Roberto A. Pinto PAES **
Evandro Letti VESCIO ***
Maria Josefa GONÇALVES **
José Donato de PRÓSPERO **
Fares RAHAL ***

RIALA6/506

PAES, R.A.P.; VESCIO, E.L.; GONÇALVES, M.J.; PRÓSPERO, J.D. & RAHAL, F. — Actinomicose apendicular. Estado anátomo-clínico de um caso. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):97-100, 1980.

RESUMO: É apresentado um caso de actinomicose apendicular, que resultou em apendicite aguda. São feitas considerações sobre aspectos anatomopatológicos e clínico-cirúrgicos desta entidade pouco freqüente. Pela raridade do caso, único nos arquivos da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, os autores entendem ser válida esta comunicação isolada.

DESCRIPTORIOS: actinomicose apendicular, estudo anátomo-clínico.

INTRODUÇÃO

A actinomicose foi individualizada como entidade nosológica em 1840 por LANGENBECK¹, e posteriormente foi descrita em 1877 por BOLLINGER², na patologia veterinária, devendo-se a ISRAEL³, em 1878, sua descrição na patologia humana.

No Brasil, o primeiro caso de actinomicose humana foi publicado em 1888 por BULHÕES & MAGALHÃES⁴. Tratava-se de um caso com localização cutânea. Em 1908, AMARAL⁵ publica a primeira tese no Brasil sobre o estudo clínico da actinomicose humana, descrevendo a sintomatologia da localização abdominal. MOTTA⁶, em 1930, descreve um caso de actinomicose hepática e SALAZAR SOBRINHO⁷, em 1945, relata um caso de actinomicose do apêndice cecal. Em 1965, FRIMM *et alii*⁸ publicam dois casos de actinomicose com localização intestinal.

DESCRIÇÃO DO CASO

Trata-se de paciente do sexo masculino, com 36 anos de idade, negro, natural e procedente de São Paulo, Capital. Deu entrada no Pronto Socorro Central da Santa Casa de São Paulo, referindo dor na fossa ilíaca direita, havia três dias, tipo ferroadá, contínua, e que melhorava em decúbito dorsal. Refere ter tido febre nesses três dias, porém, não medida. Ao exame físico, o paciente apresentava-se em bom estado geral, sem febre, sem linfonodos palpáveis e sem lesões cutâneas. Os dentes estavam mal conservados, alguns estavam cariados havendo ausência de vários. O abdômen estava plano, flácido, intensamente doloroso ao nível da fossa ilíaca direita, onde se palpava plastrão com 10 cm de diâmetro. A punção da fossa ilíaca direita revelou coleção purulenta. Os demais órgãos e aparelhos nada apresentavam digno de nota.

* Realizado no Departamento de Patologia e no Departamento de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, SP.

** Do Departamento de Patologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa, SP.

*** Do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa, SP.

O paciente foi então internado e submetido a cirurgia no mesmo dia. Feita incisão paramediana, para-retal interna, infra-umbilical, encontrou-se o apêndice vermiforme muito aumentado de tamanho e, com a manipulação, deu vazão a grande quantidade de pus. Foi praticada apendicectomia, com sepultamento satisfatório do coto apendicular, e drenada a cavidade abdominal. O quadro do paciente evoluiu com supuração da parede ao nível da incisão e no local do dreno. Foi medicado com penicilina cristalina 2.000.000 U.I., endovenosa, diariamente, durante 15 dias, e a infecção cedeu por completo. Tomou também Garamicina, 80 mg, intramuscular, de 8 em 8 horas, durante dez dias. Nos três últimos dias começou a receber Ampicilina, 3 g ao dia. Teve alta com retorno ambulatorial para controle, mantendo-se a Ampicilina naquela dosagem.

ANATOMIA PATOLÓGICA

Ao exame histológico os cortes do apêndice cecal mostraram processo inflamatório, constituído por infiltrado linfocitário difuso e proliferação conjuntiva fibrosa difusa e irregular, comprometendo todas as túnicas do órgão. Em um dos cortes, na submucosa, havia coleção purulenta e proliferação histiocitária circundando massas granulosas, basófilas, que apresentavam caracteres de grãos actinomicóticos (figuras 1 e 2). Observou-se também, em meio à proliferação fibrosa, trajeto fistuloso, com exsudato purulento na luz. O exame bacteriológico do pus drenado da parede revelou a presença destes grãos.

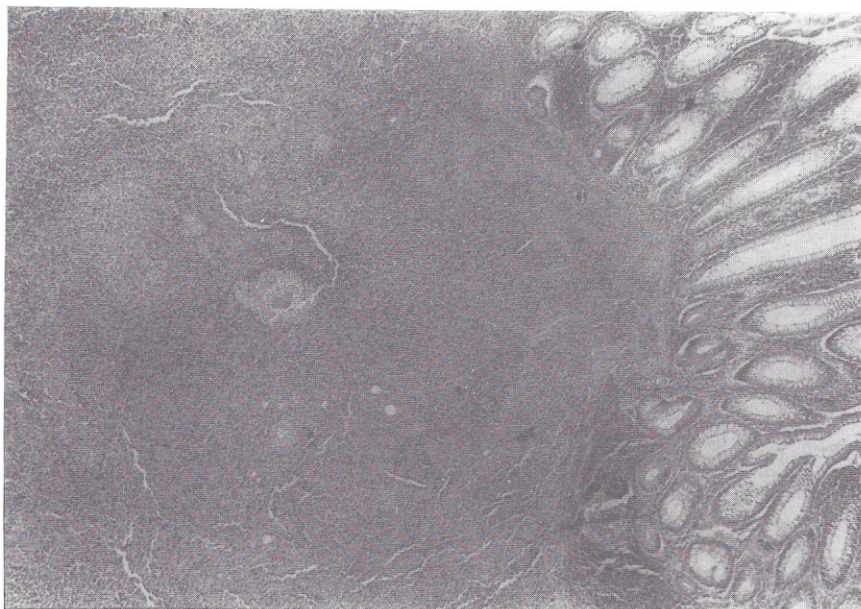


FIGURA 1 — Apêndice cecal: abscesso na submucosa em cuja porção central há um grão actinomicótico. H.E. 40 x.

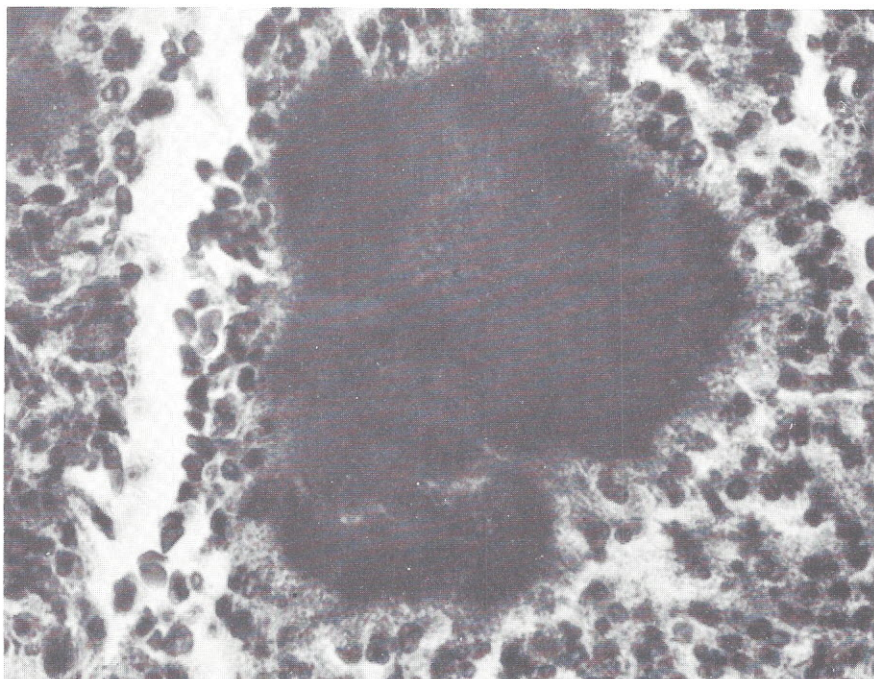


FIGURA 2 — Detalhe do grão de actinomicose, onde se vêem as claves e o exsudato purulento em torno. H.E. 160 x.

COMENTÁRIOS

Segundo diversos autores^{4, 5, 11, 12}, as lesões actinomicóticas localizam-se, com maior frequência, na região cérvico-facial (60% dos casos), torácica (20%) e abdominal (20%). Na actinomicose abdominal, a localização ceco-apendicular é a mais freqüente (55% dos casos), seguida pela localização gastroduodenal (13%), hepatobiliar (8%) e reto-sigmóidea (8%)^{10, 14}. Trata-se de infecção cujo agente causal freqüente é o *Actinomyces israelii*, bactéria anaeróbica, embora outros actinomicetos possam provocar a doença. Apesar de estar mais relacionada a bactérias que a fungos, este agente é mais estudado na micologia por causa de precedentes históricos. O *A. israelii* é um habitante normal da cavidade oral, encontrando-se em forma saprófita, por exemplo, em cáries dentárias ou tecidos desvitalizados, nas criptas amigdalinas, com

níveis de oxigênio compatíveis com o desenvolvimento deste anaeróbio. Este microorganismo tende a crescer em colônias dentro das lesões teciduais, formando massa densa e central, envolta por filamentos irradiados, as "clavas" às vezes vistos macroscopicamente, constituindo os "grãos actinomicóticos".

Neste caso, pode-se aceitar como ponto de partida para a infecção a cavidade oral, com posterior invasão da mucosa apendicular, formação de fístulas e posterior perfuração, que produziram o abscesso peritoneal.

A baixa freqüência de actinomicose de localização intestinal, no Brasil, e a raridade da apendicite aguda, actinomicótica, pois este foi até agora o único caso observado na Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, além da insuficiente divulgação dos aspectos clínicos e a comunicação deste caso. anatomopatológicos desta entidade, justificam

RIALAG/506

PAES, R.A.P.; VESCIO, E.L.; GONÇALVES, M.J.; PRÓSPERO, J.D. & RAHAL, F. — Appendicular actinomycosis. Anatomoclinic study of one case. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):97-100, 1980.

ABSTRACT: The authors report a case of appendicular actinomycosis which changed into acute appendicitis. The anatomopathological, clinical, and surgical aspects of this infrequent localization of the disease are considered.

DESCRIPTORS: actinomycosis in caecal appendix, anatomoclinic study.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMARAL, Z.A. — *Estudo clínico da actinomicose*. Rio de Janeiro, 1908. [Tese — Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro]
2. BOLLINGER, O. apud COPE, V.Z.⁴.
3. BULHÕES, O. & MAGALHÃES, P.S. apud AMARAL, Z.A.¹.
4. COPE, V.Z. — *Actinomycosis*. London, Oxford University Press, 1938. 248 p.
5. COPE, V.Z. — Visceral actinomycosis. *Brit. med. J.*, 2:1311-6, 1949.
6. FRIMM, C.E.; MARIGO, C. & DEGNI, M. — Actinomicose intestinal. Revista clínica, patológica e terapêutica — Apresentação de casos. *Hospital*, Rio de J., 64:173-201, 1963.
7. ISRAEL, J. — Neue Beobachtungen auf dem Gebiete der Mykosen des Menschen. *Virchows Arch. Abt. A. Pathol. Anat.*, 74: 15-53, 1878.
8. LANGENBECK, B. apud FRIMM *et alii*⁶.
9. MOTTA, C. — Actinomicose hepática. *Anais Fac. Med. S. Paulo*, 5:167-75, 1930.
10. MOUSSEAU, P.A. & MOUSSEAU-BRODU, M.C. — L'actinomicose abdominale. *J. Chir.*, 106:565-88, 1973.
11. PUTMAN, H.C., JR.; DOCKERTY, M.B. & WAUGH, J.M. — Abdominal actinomycosis. An analysis of 122 cases. *Surgery*, 28: 781-800, 1950.
12. RAMON Y CAJAL JR., S.; PENHA, M.; CAMPO, C.; ISPIZUA I. & BULLON, A. — Actinomicosis gástrica intramural. Observaciones anatomoclínicas sobre un caso y revisión de la literatura. *Rev. esp. Enferm. Apar. dig.*, 50:445-52, 1977.
13. SALAZAR SOBRINHO, J. — Actinomicose do apêndice. *Brasil méd-cir.*, 7:225-7, 1945.
14. VORHAUER, W.; BRIERE, J.; VEYSSIER, P. & CHELLOUL, N. — Actinomicose thoracique et abdominale. Étude anatomopathologique de 5 observations. *Sem Hop. Paris*, 52:1435-40, 1976.

Recebido para publicação em 6 de junho de 1980.

UTILIZAÇÃO DA TÉCNICA DE ANTICORPOS NÃO MARCADOS PEROXIDASE (PAP) NA DETECÇÃO DO ANTÍGENO DE SUPERFÍCIE DA HEPATITE B EM TECIDO HEPÁTICO *

Venâncio Avancini Ferreira ALVES **
Carlos Floriano de MORAIS **
Raimunda Telma de Macedo SANTOS ***
Augusta Kiyomi TAKEDA ***
Luís Carlos da Costa GAYOTTO **

RIALAS/507

ALVES, V.A.F.; MORAIS, C.F.; SANTOS, R.T.M.; TAKEDA, A.K. & GAYOTTO, L.C.C. — Utilização da técnica de anticorpos não marcados peroxidase (PAP) na detecção do antígeno de superfície da hepatite B em tecido hepático. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):101-106, 1980.

RESUMO: Foi utilizada a técnica de anticorpos não marcados peroxidase-antiperoxidase em fragmentos de tecido hepático para a detecção de antígeno de superfície da hepatite B. Em confronto com a imunofluorescência, esta reação apresenta as vantagens de aplicabilidade em tecidos fixados e emblocados rotineiramente, análise à microscopia óptica ou eletrônica, visualização de detalhes morfológicos do tecido por contracorantes, além de manutenção da reação por um tempo indefinido. A utilização, neste estudo, de arsenal imunológico totalmente produzido nos laboratórios do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil, é um importante passo para a aplicabilidade deste método na rotina diagnóstica, em nosso meio.

DESCRITORES: coloração de tecido hepático, técnica imunocitoquímica; antígenos de superfície da hepatite B; hepatite B, antígenos; antígeno Austrália.

INTRODUÇÃO

As técnicas imunoenzimáticas¹⁰ introduzidas nos anos 60, com fundamentos teóricos semelhantes aos da imunofluorescência⁴, apresentam as vantagens de: a) poderem ser empregadas em tecidos fixados e emblocados rotineiramente, não requerendo, portanto, o processo por congelamento; b) possibilitarem a visualização da reação nos tecidos através tanto da microscopia óptica como da eletrônica; c) manterem detalhes morfológicos, podendo ser o tecido contra-corado por outros métodos; d) permanecer o material corado por períodos mais longos.

STERNBERGER^{14, 15} introduziu a técnica de "anticorpos não marcados", utilizando o complexo peroxidase-antiperoxidase, o qual consiste na aplicação de anticorpos primários específicos produzidos em coelhos, adicionando a estes o soro de bode anti-IgG de coelho, em excesso relativo. Utilizando o poder antigênico da peroxidase, preparou o complexo peroxidase-antiperoxidase (PAP), obtido de coelho. Como o soro de bode anti-IgG de coelho tem dois sítios de ligação e está em excesso, liga-se tanto ao anticorpo primário como ao complexo PAP. O substrato cromogênico desta reação é a diaminobenzidina que sofre peroxidação com H₂O₂ na presença da peroxidase.

* Realizado no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e na Seção de Imunologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da USP.

*** Da Seção de Imunologia do Instituto Adolfo Lutz.

Esta técnica proporcionou grande aumento da sensibilidade da reação^{1, 5, 7, 15, 16}, havendo até autores que obtiveram sensibilidade superior à do radioimunoensaio⁸. Sua aplicabilidade prática é vertiginosamente crescente, sendo atualmente empregada na visualização de agentes etiológicos de doenças infecto-parasitárias, bem como de seus antígenos^{3, 6, 12, 15}, de auto-anticorpos em doenças auto-imunes⁹ e, em larga escala, na histopatologia de tumores produtores de hormônios, com morfologia inconclusiva^{2, 5, 17}.

No Brasil, há relato do emprego deste método¹² mas, por ser utilizado arsenal imunológico importado, não traz perspectivas em procedimentos diagnósticos de rotina.

O presente trabalho tem por finalidade apresentar os resultados da aplicação do complexo PAP na pesquisa do antígeno de superfície da hepatite B (AgHB_s), em fragmentos de tecido hepático fixado em formol e emblocado em parafina, com arsenal imunológico totalmente produzido nos laboratórios de imunologia do Instituto Adolfo Lutz.

MATERIAL

a) *Tecido hepático*: 64 lâminas de fragmentos de tecido hepático, obtidos em necropsia de paciente portador de hepatite crônica, em fase cirrótica, com AgHB_s previamente detectado no soro, mediante reação de fixação de complemento e, no citoplasma de hepatócitos, pela reação histoquímica com a orceína de Shikata^{5, 13}, utilizadas como controles positivos; 64 lâminas de fragmentos de tecido hepático, obtido em necropsia de paciente sem alterações óbvias à microscopia óptica, negativos para a reação pela orceína de Shikata¹³, utilizadas como controles negativos.

b) *Soro anti-HB_s*: produzido em coelho, de título 1:128, por hemaglutinação passiva reversa.

c) *Antiimunoglobulina de coelho*: produzida em bode, título de anticorpos precipitantes por imunodifusão igual a 1:4.

d) *Complexo peroxidase-antiperoxidase (PAP)*: peroxidase* conjugada à antiperoxidase obtida em coelho, segundo método descrito por STERNBERG¹⁴, com título de precipitação igual a 1:8.

e) *Soro não imune de bode*

f) *Solução reveladora*: diaminobenzidina, 25 mg; azida sódica, 31,5 mg; água oxigenada (130 vols.), 25 ml; tampão salino fosfatado (pH 7,2), 50 ml.

MÉTODO

Utilizou-se o método descrito por STERNBERG¹⁴, modificado por BURNS¹.

Foram necessárias algumas alterações nas diluições dos anti-soros:

a) Na incubação com anticorpos de coelho anti-HB_s, foram usadas as diluições 1/5, 1/10 e 1/20.

b) Na incubação com anticorpo de bode anticoelho, foram usadas as diluições 1/2, 1/4, 1/8 e 1/16.

c) Na incubação com complexo solúvel peroxidase-antiperoxidase, foram usadas as diluições 1/2, 1/4, 1/8 e 1/16.

RESULTADOS

O padrão "positivo" apresentou coloração castanho-escura, em padrão homogêneo, difuso, no citoplasma de agrupados de hepatócitos, poupando o núcleo, visível como um centro claro (figuras 1 e 2). Os demais hepatócitos células de Kupffer, ductos biliares, artérias, veias e hemácias, assim como o interstício, tomaram coloração "gelo", com minúsculos grânulos acastanhados, irregulares (artefato de técnica).

O padrão "negativo" apresentou coloração "gelo", difusa, havendo minúsculos grânulos acastanhados, irregulares.

Os resultados das 128 lâminas estudadas foram os seguintes:

a) 12 lâminas controle positivo incubadas com complexo PAP em diluição 1/2, conforme figura 3.

b) 12 lâminas controle positivo incubadas com complexo PAP em diluição 1/4, como demonstra a figura 4.

c) 24 lâminas controle positivo incubadas com complexo PAP em diluições 1/8 e 1/16 que resultaram *negativas*, independentemente de diluição do anti-HB_s (1/5, 1/10 e 1/20) e do anticorpo bode anticoelho (1/2, 1/4, 1/8 e 1/16).

d) Todas as 64 lâminas controle-negativo resultaram *negativas*, independentemente da diluição dos anti-soros e anti-HB_s e bode-anticoelho, bem como do complexo PAP.

e) 16 lâminas que receberam o PAP na diluição dos anti-soros e anti-HB_s e bode-anticoelho foram suprimidas as etapas 2, 3 e 4 do método de STERNBERG¹⁴, que apresentaram resultados semelhantes aos das lâminas processadas com todas as etapas do método.

* Peroxidase, tipo II, da Sigma Chemical Company, St. Louis, Ms., E.U.A.

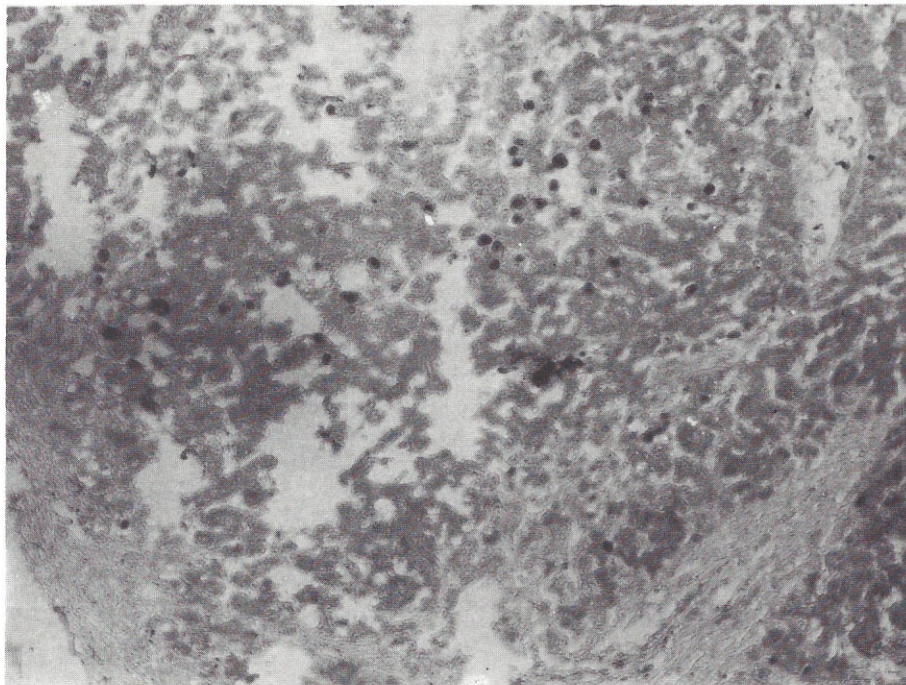


FIGURA 1 — O citoplasma de hepatócitos infectados com AgHB_s toma coloração castanho-escura, difusa, enquanto o núcleo permanece como um 'centro claro, negativo'. Os demais hepatócitos e interstícios tomam coloração "Gelo". (PAP. 40 x)

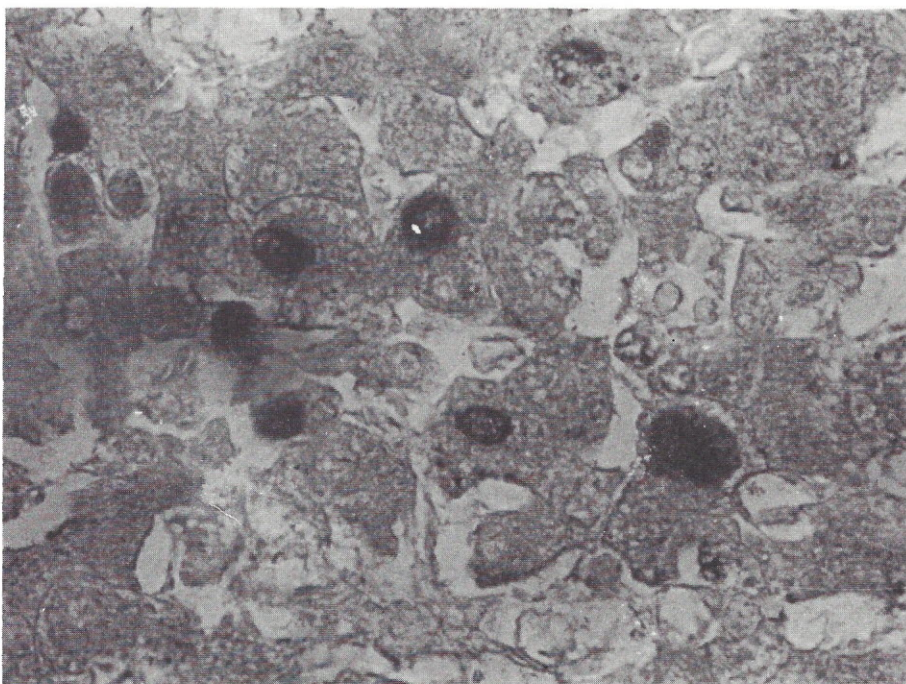


FIGURA 2 — Detalhe do mesmo tecido apresentado na figura 1 — O citoplasma dos hepatócitos com AgHB_s é facilmente diferenciado das demais estruturas devido à coloração castanho-escura, difusa. (PAP. 140 x)

| | | Anticorpo bode anticoelho | | | |
|---------------------------------------|------|---------------------------|-----|-----|------|
| Diluição | | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
| Anticorpo coelho anti-HB _s | 1/5 | — | — | — | — |
| | 1/10 | + | + | — | — |
| | 1/20 | + | + | — | — |

(—) = negativo.

(+) = positivo.

FIGURA 3 — Resultado das lâminas de controle positivo submetidas ao complexo PAP em diluição 1/2.

| | | Anticorpo bode anticoelho | | | |
|---------------------------------------|------|---------------------------|-----|-----|------|
| Diluição | | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
| Anticorpo coelho anti-HB _s | 1/5 | — | — | — | — |
| | 1/10 | + | + | — | — |
| | 1/20 | + | + | — | — |

(—) = negativo.

(+) = positivo.

FIGURA 4 — Resultado das lâminas de controle positivo submetidas ao complexo PAP em diluição 1/4.

DISCUSSÃO

Os anticorpos produzidos no Instituto Adolfo Lutz apresentaram resultados iniciais que podem ser considerados satisfatórios, na detecção do antígeno de superfície da hepatite, em cortes de fígado obtidos de necropsia de paciente portador de cirrose por hepatite B. Foram eles anti-HB_s e antiperoxidase, ambos produzidos em coelhos, assim como soro anticoelho, produzido em bode. Este último, como se sabe, reagindo com soro de coelho, permitiu a ligação do anticorpo anti-HB_s com antiperoxidase (ambos imunoglobulinas de coelho). Desta maneira, a aplicação deste complexo imunológico ao tecido fez com que a reação de HB_s do tecido com o anti-HB_s trouxesse consigo também o complexo PAP capaz de reagir com a diaminobenzidina, corando os locais em que se encontra o antígeno no fígado.

Levando em consideração que, como já foi ressaltado, o soro de bode deve ao mesmo tempo ligar-se tanto ao anti-HB_s como ao PAP, há necessidade de excesso relativo de soro de bode anticoelhos na reação, sem o qual o anti-HB_s poderia consumir o soro antibode, sem efetivar a ligação desejada. Desta maneira, diluições aumentadas de soro de bode promoveriam um excesso relativo do anti-HB_s e negatividade da reação.

Com efeito, o soro de bode anticoelho em diluições de 1:8 e 1:16 não repetiu a positividade obtida com as diluições de 1:2 e 1:4. De outra parte, como não poderia deixar de ser, sucedeu o inverso com o soro de coelho anti-HB_s. Em diluições menores repetiu-se a condição de excesso relativo, que deixou de existir quando se aumentou a diluição: assim, em diluições de 1:5, a reação foi negativa, tornando-se positiva a 1:10 e 1:20.

De outra parte, deve ser ainda considerada a possibilidade de obtenção de títulos mais elevados de PAP, aumentando a sensibilidade do método.

As minúsculas granulações acastanhadas que apareceram em todas as lâminas repre-

sentam cristais insolúveis de diaminobenzidina, cuja presença não interferiu na identificação do AgHB_s, enquanto a proporção dos hepatócitos corados, seu agrupamento em focos, bem como padrão intracitoplasmático difuso de distribuição do antígeno, poupando o núcleo, repete o referido na literatura^{1, 2, 3, 5, 6, 7, 13, 16}.

Deve-se salientar que a utilização dos itens 2, 3 e 4 da técnica descrita por STERNBERGER¹⁵, que visam bloquear a atividade da peroxidase endógena, em nosso material pareceu dispensável, já que sua utilização não causou resultados falso-positivos, o que discorda da experiência de alguns autores^{7, 12, 14, 15, 16}. Este fato poderia, em parte, estar relacionado com o tipo de tecido analisado, no caso o fígado, ou à incubação com xileno, o que poderia destruir a atividade da peroxidase endógena¹³.

CONCLUSÕES

As vantagens da implantação do ensaio imunoenzimático em fragmentos teciduais, em nosso meio, são significativas: a) a técnica funciona na identificação do AgHB_s em tecido hepático; b) torna desnecessária a utilização de reagentes imunológicos importados, permitindo sua aplicação em caráter de rotina; c) desde que se promova a produção de antiperoxidase em diferentes animais, para a obtenção de diferentes conjugados, poderão ser identificados antígenos microbianos, hormonais e tumorais; d) a aplicabilidade deste método, altamente sensível e específico, praticamente não terá limites, não só no campo da pesquisa, mas também no da rotina diagnóstica, especialmente na patologia cirúrgica.

Agradecimentos

Agradecemos à Prof.^a Dr.^a Eosenir S. Sarno e à Dr.^a Leila Maria Machado Vieira, do Departamento de Patologia Geral da Universidade Estadual do Rio de Janeiro, pelas sugestões técnicas para este trabalho.

RIALA6/507

ALVES, V.A.F.; MORAIS, C.F.; SANTOS, R.T.M.; TAKEDA, A.K. & GAYOTTO, L.C.C. — Peroxidase — antiperoxidase unlabelled antibody technique (PAP) for the detection of hepatitis B surface antigen in hepatic tissue. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):101-106, 1980.

ABSTRACT: Peroxidase — antiperoxidase unlabelled antibody technique on hepatic tissue sections was carried out for detection of hepatitis B surface antigen. This method demonstrated advantages over immunofluorescence, regarding to its utilization in fixed or in block tissue, in routine procedures, in optical or electronic microscopy, for visualization of detailed morphological tissue structures by selective staining and preparation of permanent records. This technique using all of the immunological materials prepared in our laboratory at Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brazil, is an important step for its suitability for use in diagnostic procedures.

DESCRIPTORS: staining, immunocytochemical technique for hepatic tissue; antigens, surface, hepatitis B; hepatitis B surface antigens; Australia antigens.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BURNS, J. — Background staining and sensitivity of the unlabel antibody-enzyme PAP method. Comparison with the peroxidase-labelled antibody sandwich method using formalin-fixed paraffin embedded material. *Histochemistry*, 43:291-4, 1975.
2. CLAUSEN, P.P.; JACOBSEN, M.; JOHANSEN, P. & THOMMENSEN, N. — Immunohistochemical demonstration of intracellular immunoglobulin in formalin fixed, paraffin embedded sections, as staining method in diagnostic work. *Acta path. microbiol. scand.* (Section C), 87:307-12, 1979.
3. CLAUSEN, P.P. & TOMSEN P. — Demonstration of hepatitis B-surface antigen in liver biopsies. *Acta path. microbiol. scand.* (Section A), 86:383-8, 1978.
4. COONS, A.H.; CREECH, H.J. & JONES, R.N. — Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 47:200-2, 1941.
5. DE LELLIS, R.A.; STERNBERGER, L.A.; MANN, R.B.; BANKS, P.K. & NAKANE, P.K. — Immunoperoxidase technics in diagnostic pathology. *Am. J. clin. Path.*, 71: 483-8, 1979.
6. HUANG, S.N. — Immunohistochemical demonstration of hepatitis B core and surface antigens in paraffin sections. *Lab. Invest.*, 33:88-95, 1975.
7. MESA-TEJADA, R.; PASCAL, R.R. & FENOGLIO, C.M. — Immunoperoxidase: a sensitive immunohistochemical technique as a "special stain" in the diagnostic pathology laboratory. *Human Pathol.*, 8:313-20, 1977.
8. MORIARTY, G.C.; MORIARTY, C.M. & STERNBERGER, L.A. — Ultrastructural immunocytochemistry with unlabeled antibodies and the peroxidase-antiperoxidase complex (PAP). A technique more sensitive than radioimmunoassay. *J. Histochem. Cytochem.*, 21:825-33, 1973.
9. MURPHY, W.M.; DEODHAR, S.D. & CAWLEY, L.P. — Use of horseradish peroxidase in identification of serum antibodies and immune complexes. *Clin. Chem.*, 19:370, 1973.
10. NAKANE, P.K. & PIERCE, G.B., JR. — Enzyme labelled antibodies: preparation and application for the localization of antigens. *J. Histochem. Cytochem.*, 14:929-38, 1967.
11. RITTER, H.B. & OLESON, J.J. — A peroxidase reaction in paraffin sections. *Arch. Path.*, 43:330-2, 1947.
12. SARNO, E.N.; GERECHT, D. & FONSECA, F.B. — Unlabelled antibody enzyme method for HB_sAg. in liver tissue: soluble horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase complex (PAP). *Rev. Bras. Med.*, 35:488-90, 1978.
13. SHIKATA, T.; UZAWA, T.; YOSHIWARA, N.; AKATSUKA, T. & YAMAZAKI, S. — Staining method of Australia antigen in paraffin section-detection of cytoplasmic inclusion bodies. *Jap. J. exp. Med.*, 44:25-36, 1974.
14. STERNBERGER, L. — *Immunochemistry*. 2nd ed. New Jersey, Prentice Hall, 1974.
15. STERNBERGER, L.A.; HARDY, P.H., Jr.; CUCULIS, J.J. & MEYER, H.G. — The unlabeled antibody-enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (Horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J. Histochem. Cytochem.*, 18:315-33, 1970.
16. TAYLOR, C.R. — Immunoperoxidase techniques. Practical and theoretical aspects. *Arch. Path. Lab. Med.*, 102:113-21, 1978.
17. THUNG, S.N.; GERBER, M.A.; SARNO, E. & POPPER, H. — Distribution of five antigens in hepatocellular carcinoma. *Lab. Invest.*, 41:101, 1979.

Recebido para publicação em 12 de junho de 1980.

ISOLAMENTO DE ENTEROBACTÉRIAS PATOGENICAS EM BERÇARIOS DO MUNICIPIO DE SÃO PAULO *

Gil Vital Alvares PESSÓA **
Ruth Takako SUGIMORI **
Kinue IRINO **
Mathilde RASKIN **
Chifumi Takeuchi CALZADA **

RIALA6/508

PESSÓA, G.V.A.; SUGIMORI, R.T.; IRINO, K.; RASKIN, M. & CALZADA, C.T.
— Isolamento de enterobactérias patogênicas em berçários do Município de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):107-127, 1980.

RESUMO: Foi analisada a contaminação por enterobactérias e seus mecanismos de introdução e manutenção em 12 berçários do Município de São Paulo, no período de janeiro a março de 1976. Foram examinadas 4.001 amostras obtidas de alimento, do leite subungueal, de fezes e do meio ambiente. Detectou-se contaminação fecal em grau variável no universo de todos os berçários, inclusive de centros obstétricos e lactários. A variação percentual da contaminação permitiu a divisão dos berçários em dois grupos: o primeiro, constituído por sete berçários com nível de contaminação de 4,9% até 8,7% e o segundo, variando de 14,4% a 25,2%. O achado de 38 cepas de enterobactérias patogênicas nas mais variadas localizações do meio ambiente, em metade dos berçários, indica que estes enteropatógenos pertenciam à microbiota normal, pois estes berçários funcionavam normalmente e, no momento da pesquisa, não havia denúncia de surtos epidêmicos. O percentual médio de positividade de contaminação fecal do leite subungueal dos funcionários foi de 24,6%. O encontro de enteropatógenos nas fezes de recém-nascidos apresentava elevação do percentual de positividade à medida em que aumentava a sua permanência nos berçários. Em nosso meio, os enteropatógenos isolados das fezes de funcionários carecem, no momento, de importância epidemiológica, pois os seus sorotipos são diferentes dos encontrados no meio ambiente e nas fezes de recém-nascidos. A análise dos perfis globais de resistência e sensibilidade aos vários antimicrobianos testados permitiu a divisão das estirpes de bactérias enteropatógenicas em dois grupos com importância epidemiológica: o das linhagens hospitalares, cujo principal representante é *Salmonella typhimurium*, e o das cepas de passagem, como *S. agona*, *S. minnesota*, *S. newport*, *S. infantis* e outras.

DESCRITORES: infecção cruzada; *Salmonella typhimurium*; *Salmonella* sp. *Escherichia coli* GEI; infecção hospitalar; salmonelose; infecções por enterobactérias.

INTRODUÇÃO

A introdução de infecções por enterobactérias em berçário ocorre de inúmeras maneiras 1, 4, 19, 24, 26, 27, 35, 37, 38, 46, 58, 51, 63, 71, 73, 75, 77, 78, 80, 83, 89, sendo que a importância da via aérea é controversa 11, 14, 20, 21, 22, 28, 41, 50, 87, 88.

Em relação aos mecanismos de transmissão da infecção, deve ser salientado o fato de que a inter-humana dificilmente se completa sem haver um veículo intermediário comum.^{2, 44}

As estirpes hospitalares de bactérias apresentam comportamento peculiar em relação aos agentes antimicrobianos, traduzido pelo fenô-

* Realizado na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP., com auxílio financeiro do Ministério da Saúde, Brasil.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

meno da resistência bacteriana. Este fenômeno, revelado pela antibioticoterapia, foi agravado pelo uso indiscriminado e abusivo destes fármacos, cuja ação seletiva evidencia uma série de mecanismos genéticos de resistência às drogas. A seleção de linhagens multirresistentes aumenta a virulência de bactérias patogênicas e torna virulentos germes oportunistas nestes ambientes. Estes fatos são comprovados pelos trabalhos de inúmeros autores^{3, 6, 7, 13, 17, 18, 23, 25, 36, 42, 45, 47, 48, 66, 67, 69, 70, 74, 79, 86}.

No Município de São Paulo, os primeiros surtos epidêmicos intra-hospitalares foram descritos por TAUNAY *et alii*^{82, 83, 84, 85}, sendo que nos dois primeiros surtos (1956 e 1958) o agente responsável foi *Escherichia coli* 0111 B4, no terceiro, *Salmonella grumpensis* e, no último, *S. typhimurium* (1971). Em São Paulo, a *S. typhimurium* passou a ser o sorotipo mais isolado a partir de 1968, com 40% dos isolamentos, sendo que em levantamento de 17 anos, feito por Taunay, este isolamento correspondia a apenas 11,22%⁸¹ dos sorotipos encontrados. A partir de então, corresponde a 85% dos sorotipos isolados de material humano⁶⁸.

PESSÓA⁸³ relata, em 1973, uma variante de *S. typhimurium* fermentadora da lactose. Em 1978 relata a duração dessa epidemia, mostrando a íntima ligação com os ambientes hospitalares⁸⁰. Esta variante correspondeu, nos anos de 1972 a 1974, a 60% do total de isolamentos de *S. typhimurium*. Atualmente as variantes isoladas são lactose tardia.

Trabalhos realizados entre 1973 e 1977 em vários hospitais pediátricos, no Município de São Paulo^{8, 16, 28, 52, 57, 59, 64, 76}, encontraram uma frequência de infecção intra-hospitalar variando de 20% a 40% por *S. typhimurium*, sendo que num hospital foi isolada *E. coli* 0119 B14⁸.

PESSÓA *et alii*⁸⁸, em 1978, relatam a grande diferença entre cepas hospitalares e selvagens de *S. typhimurium* em relação ao perfil de resistência a vários antibióticos.

No presente trabalho os autores têm como objetivo a avaliação da frequência do isolamento de enterobactérias patogênicas e/ou indicadores de contaminação fecal em berçários fechados do Município de São Paulo. Todos os berçários trabalhavam em condições aparentemente normais, sem nenhuma queixa em relação a anormalidade entre os recém-nascidos.

MATERIAL

No período de janeiro a março de 1976 foram coletadas 4.001 amostras em berçários de 12 hospitais do Município de São Paulo. Em todos hospitais foram coletadas amostras de fezes de recém-nascidos (RN) e de funcionários, sendo que destes últimos também foram cole-

tadas do leite subungueal; do leite e soluções hidratantes, e do meio ambiente, tanto dos berçários como lactário e salas de parto.

A coleta de material em cada hospital foi feita num único dia de maneira a representar um corte transversal bacteriológico. Nos RN normais, as coproculturas foram repetidas na alta hospitalar.

MÉTODOS

Coleta de material

Todo material coletado, independentemente de sua origem, foi colocado em caldo Selenito-Novobiocina (SN)⁶⁰. As fezes dos RN e do material subungueal foram imediatamente semeadas em ágar Mac Conkey antes de serem colocadas em caldo SN. Tanto na coleta das fezes de RN, como nas de leite subungueal e de ambiente, o ponteiro de algodão foi previamente umedecido em caldo SN, variando o tamanho do ponteiro de acordo com o tipo de material coletado. Para o material líquido utilizou-se caldo SN em concentração dupla.

Técnicas de identificação

A identificação presuntiva foi realizada no meio IAL⁸, que permite a verificação simultânea da descarboxilação da lisina, motilidade, fermentação da glicose, sacarose, produção de gás, H₂S, hidrólise de uréia, desaminação de L-triptofano, produção de indol, pesquisa da oxidase e da galactosidade, e a identificação sorológica⁶¹.

A identificação sorológica de *Salmonella*, *Shigella* e *E. coli* GEI foi feita por intermédio de soros preparados em laboratório do IAL. No caso de *E. coli*, a identificação sorológica foi realizada pela titulação em tubo.

A metodologia empregada encontra-se sumariada na figura 1.

Para a realização dos antibiogramas foi utilizado o método de Bauer *et alii*¹² e empregados discos^{**} impregnados com antibióticos nas concentrações a seguir discriminadas:

| | |
|-----------------------|-------|
| Ampicilina (Am) | 10 µg |
| Cefaloridina (Lr) | 30 µg |
| Estreptomicina (S) | 10 µg |
| Canamicina (K) | 30 µg |
| Cloranfenicol (C) | 30 µg |
| Tetraciclina (Te) | 30 µg |
| Gentamicina (Gm) | 10 µg |
| Ácido nalidixico (Na) | 30 µg |
| Colistina (Cl) | 10 µg |
| Ampicireina (Am) | 10 µg |

* Meio IAL = meio Instituto Adolfo Lutz.

** DIFCO Laboratories, Detroit, Mich., E.U.A.

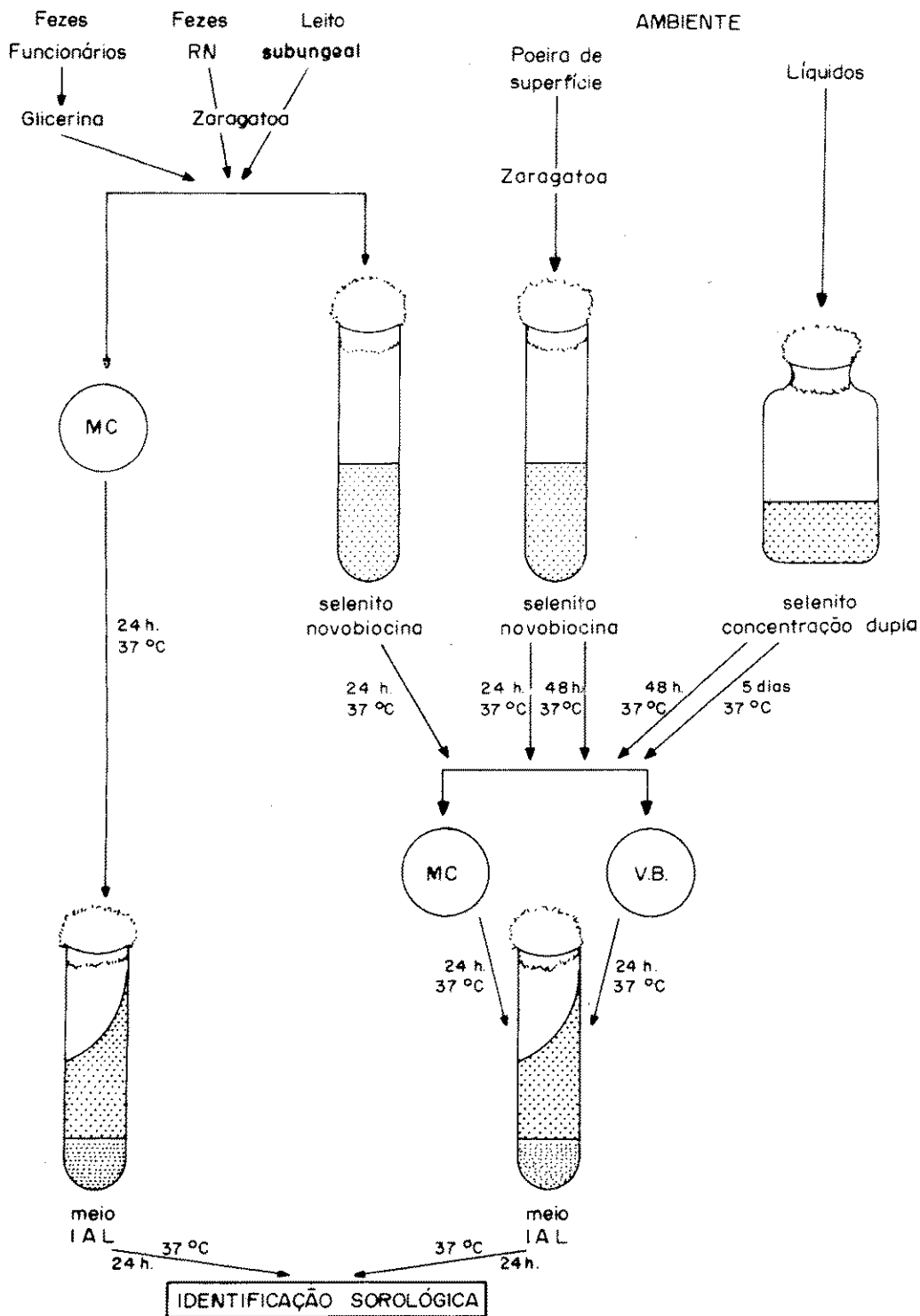


FIGURA 1 — Esquema da metodologia utilizada para a coleta de material dos vários constituintes do universo dos berçários e para sua identificação.

RESULTADOS

A origem das amostras examinadas, de acordo com as freqüências relativas aos 12 berçários estudados, encontra-se na tabela 1.

A análise desta tabela mostra a grande heterogeneidade nos universos dos doze berçários estudados, indicada pela desproporcionalidade das amostras coletadas, não havendo

TABELA 1

Origem das amostras examinadas de acordo com as freqüências relativas aos 12 berçários

| Amostras Berçários | Alimentos | Leito subungueal | Fezes | | Ambiente | Total |
|-----------------------|-----------|------------------|-------|--------------|----------|-------|
| | | | RN * | Funcionários | | |
| A | 9 | 17 | 52 | 9 | 101 | 188 |
| B | 15 | 27 | 138 | 11 | 194 | 385 |
| C | 6 | 20 | 79 | 12 | 148 | 265 |
| D | 14 | 7 | 28 | 5 | 102 | 156 |
| E | 3 | 9 | 16 | 26 | 90 | 144 |
| G | 16 | 23 | 198 | 41 | 201 | 479 |
| H | 22 | 13 | 88 | 4 | 214 | 341 |
| K | 17 | 14 | 28 | 14 | 124 | 197 |
| M | 9 | 67 | 432 | 125 | 453 | 1.086 |
| R | 4 | 6 | 56 | 5 | 96 | 167 |
| S | 4 | 5 | 42 | 16 | 60 | 127 |
| T | 28 | 59 | 137 | 0 | 242 | 466 |
| Total | 147 | 267 | 1.204 | 268 | 2.025 | 4.001 |

* RN = recém-nascido.

TABELA 2

Freqüência de isolamentos de E. coli em amostras de alimentos, leito subungueal e ambiente dos 12 berçários pesquisados

| Berçários | Amostras | | | Total |
|-----------|-----------|------|-----------|-------|
| | Positivas | | Negativas | |
| | n.º | % | n.º | |
| A | 21 | 16,5 | 106 | 127 |
| B | 34 | 14,4 | 202 | 236 |
| C | 9 | 5,2 | 165 | 174 |
| D | 31 | 25,2 | 92 | 123 |
| E | 5 | 4,9 | 97 | 102 |
| G | 19 | 7,9 | 221 | 240 |
| H | 15 | 6,0 | 234 | 249 |
| K | 9 | 5,8 | 146 | 155 |
| M | 31 | 5,9 | 498 | 529 |
| R | 24 | 22,6 | 82 | 106 |
| S | 6 | 8,7 | 63 | 69 |
| T | 72 | 21,9 | 257 | 329 |
| Total | 276 | — | 2.163 | 2.439 |

uma correlação numérica entre RN, funcionários e amostras do meio ambiente.

A presença de *Escherichia coli* foi considerada como indicadora de contaminação fecal nos vários constituintes do meio ambiente e sua ocorrência está relatada na tabela 2.

É digno de nota que 7 berçários apresentam um percentual variando entre 4,92 e 8,7% e que 5 mostram uma variação entre 14,4% e 25,2%, delimitando duas faixas bem nítidas.

O resultado da análise das amostras de leite e líquido de hidratação oral, água, água glicosada e chá, coletadas antes de terem sido oferecidas aos RN, encontra-se na tabela 3.

TABELA 3
Amostras positivas e negativas de leite e líquido de hidratação oral

| Berçários | Leite | | Líquidos de hidratação oral | |
|-----------|-----------|-----------|-----------------------------|-----------|
| | Positivas | Negativas | Positivas | Negativas |
| A | 0 | 5 | 0 | 4 |
| B | 2 | 5 | 1 | 7 |
| C | 0 | 2 | 0 | 4 |
| D | 3 | 8 | 1 | 2 |
| E | 0 | 3 | — | — |
| G | 0 | 3 | 0 | 13 |
| H | 0 | 4 | 1 | 17 |
| K | 0 | 13 | 0 | 4 |
| M | 0 | 3 | 2 | 4 |
| R | 1* | 1 | 1 | 1 |
| S | 0 | 2 | 0 | 2 |
| T | 5 | 11 | 4* | 8 |
| Total | 11 | 60 | 10 | 66 |

* 1 amostra com *E. coli* + *S. typhimurium*. As casas vazias (—) indicam ausência de recipiente.

Foi encontrada *E. coli* em mamadeiras de 4 berçários, sendo que num foi encontrada *Salmonella typhimurium*, além de *E. coli*. Nas mamadeiras com líquido de hidratação oral, constatou-se contaminação por *E. coli* em 6 berçários, sendo que em um havia também *S. typhimurium*.

É digno de nota o resultado obtido no exame do leite subungueal das várias categorias profissionais que estão em contato com os R.N. (tabela 4).

Decorre do exame da tabela 4 que a contaminação do leite subungueal do pessoal de nível universitário (médicos e enfermeiros) é proporcionalmente a menos importante (1,8%), seguida pela do pessoal auxiliar (4,0%), serviços (5,3%) e, como o maior participante, pela das atendentes (24,6%). Relevante foi o fato de que no berçário R a pesquisa foi negativa.

No berçário T, por condições inerentes ao seu funcionamento, as puérperas realizavam

as funções de atendentes, e o encontro de *E. coli* foi percentualmente muito mais baixo (tabela 5) do que a média encontrada nas atendentes dos 12 berçários.

Na tabela 6 foram relacionados os totais positivos e negativos e o percentual positivo das 1.834 amostras recolhidas do meio ambiente nos berçários estudados, discriminadas as instalações para RN normais, de alto risco, patológico com ou sem isolamento, e em observação, na admissão, sob terapia intensiva.

As amostras coletadas do meio-ambiente nas salas de RN normal apresentaram uma média de 11,2% de contaminação fecal, enquanto nos berçários em que havia sala para RN alto risco a freqüência foi de 7,7% e nas salas de RN patológicos, com ou sem isolamento, a percentagem média foi de 15,8%. Nas salas de terapia intensiva do berçário M, a pesquisa foi negativa; no caso do berçário G, os resultados negativos provavelmente se devem a reforma em execução no momento do exame.

TABELA 4

Relação total e percentual de contaminação fecal no leito subungueal nas várias categorias funcionais em contato com RN

| Amostras Berçários | Serviçal | | | Atendente | | | Auxiliar | | | Nível Universitário | | |
|-----------------------|-----------|------|-----------|-----------|-------|-----------|-----------|------|-----------|---------------------|------|-----------|
| | Positivas | | Negativas | Positivas | | Negativas | Positivas | | Negativas | Positivas | | Negativas |
| | n.º | % | n.º | n.º | % | n.º | n.º | % | n.º | n.º | % | n.º |
| A | — | — | — | 3 | 27,3 | 8 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 5 |
| B | 0 | 0 | 3 | 2 * | 13,3 | 13 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 5 |
| C | 0 | 0 | 5 | 1 | 16,7 | 5 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 7 |
| D | 0 | 0 | 2 | 3 | 75,0 | 1 | — | — | — | 0 | 0 | 1 |
| E | 0 | 0 | 3 | 1 | 16,7 | 5 | — | — | — | — | — | — |
| G | 0 | 0 | 2 | 3 | 53,3 | 6 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 | 5 |
| H | — | — | — | 2 | 40,0 | 3 | 1 | 50,0 | 1 | 0 | 0 | 6 |
| K | — | — | — | 2 | 40,0 | 3 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 8 |
| M | 1 | 25,0 | 3 | 6 | 14,6 | 35 | 0 | 0 | 5 | 1 | 5,88 | 16 |
| R | — | — | — | 0 | 0,0 | 5 | 0 | 0 | 1 | — | — | — |
| S | — | — | — | 3 | 100,0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| T | — | — | — | 6 ** | 30,0 | 14 | 0 | 0 | 1 | — | — | — |
| Total | 1 | 5,26 | 18 | 32 | 24,6 | 98 | 1 | 4,0 | 24 | 1 | 1,8 | 54 |

* 1 amostra *E. coli* 0119 B14.

** 1 amostra *E. coli* 0111 B4.

Observação: as casas vazias (—) indicam que não foram encontrados funcionários no momento do exame.

TABELA 5

Amostras positivas e negativas dos leitos subungueais das puérperas do berçário T

| Amostras Berçário | Positivas | | Negativas | Total |
|----------------------|-----------|------|-----------|-------|
| | n.º | % | n.º | |
| T | 6 | 15,8 | 32 | 38 |

TABELA 6

Relação total e percentual do número de amostras positivas e negativas provenientes do meio ambiente de vários berçários, conforme tipo de atenção dispensado aos RN

| Berçário | Sala de | | RN normal | | RN alto risco | | RN patológico com ou sem isolamento | | RN, admissão, em observação, terapia intensiva | | | |
|----------|--------------------|------|--------------------|-----|--------------------|-----|-------------------------------------|------|--|---|--------------------|-----|
| | Amostras positivas | | Amostras negativas | | Amostras positivas | | Amostras negativas | | Amostras positivas | | Amostras negativas | |
| | n.º | % | n.º | n.º | % | n.º | n.º | % | n.º | % | % | |
| A | 13 | 26,5 | 36 | 2 | 14,3 | 12 | 2 | 9,5 | 19 | — | — | — |
| B | 13 | 12,7 | 90 | — | — | — | 13 | 26,5 | 36 | 3 | 16,7 | 15 |
| C | 1 | 2,2 | 45 | 1 | 4,3 | 22 | 1 | 3,8 | 25 | 4 | 19,1 | 40 |
| D | 9 | 19,6 | 37 | — | — | — | 11 | 26,2 | 31 | — | — | — |
| E | 2 | 3,3 | 59 | 2 | 7,7 | 24 | — | — | — | — | — | — |
| G | 9 | 9,1 | 90 | 5 | 7,2 | 64 | 1 | 9,1 | 10 | 0 | 0 | 11 |
| H | 4 | 6,4 | 58 | 3 | 5,6 | 51 | 3 | 4,6 | 62 | 1 | 5,0 | 19 |
| K | 2 | 5,4 | 35 | 1 | 3,0 | 32 | 1 | 3,1 | 31 | — | — | — |
| M | 14 | 4,9 | 274 | 5 | 5,6 | 85 | 2 | 11,8 | 15 | 0 | 0 | 40 |
| R | 12 | 34,3 | 23 | 2 | 7,7 | 24 | 8 | 33,3 | 16 | — | — | — |
| S | 2 | 5,0 | 38 | — | — | — | 0 | 0 | 8 | — | — | — |
| T | 27 | 28,1 | 69 | 9 | 16,4 | 46 | 13 | 24,1 | 41 | — | — | — |
| Total | 108 | 11,2 | 854 | 30 | 7,7 | 360 | 55 | 15,8 | 294 | 8 | 6,0 | 125 |

Observação: As casas vazias (—) indicam não ter sido localizada a sala.

Na tabela 7 foram relacionadas as amostras positivas e negativas provenientes do meio ambiente do centro obstétrico e do lactário.

Verifica-se que em 5 berçários os centros

obstétricos apresentavam contaminação fecal, o mesmo acontecendo em três lactários.

As tabelas 8 e 9 relacionam os locais em que se isolaram amostras de *Salmonella* sp. e de *E. coli* GEI, respectivamente.

TABELA 7

Amostras positivas e negativas provenientes do meio ambiente do centro obstétrico e lactário

| Berçários | Resultado | Centro obstétrico | | Lactário | |
|-----------|-----------|-------------------|-----------|-----------|-----------|
| | | Amostras | | Amostras | |
| | | positivas | negativas | positivas | negativas |
| A | | 1 | 9 | 0 | 7 |
| B | | 0 | 19 | 0 | 5 |
| C | | 0 | 7 | 1 | 1 |
| D | | 2 | 8 | 2 | 2 |
| E | | 0 | 3 | 0 | 0 |
| G | | 1 | 4 | 0 | 6 |
| H | | 0 | 0 | 0 | 13 |
| K | | 0 | 12 | 3 | 7 |
| M | | 0 | 18 | 0 | 0 |
| R | | 0 | 10 | 0 | 1 |
| S | | 1 | 4 | 0 | 7 |
| T | | 2 | 14 | 0 | 21 |
| Total | | 7 | 108 | 6 | 70 |

TABELA 8

Locais do meio ambiente dos berçários em que foi isolada Salmonella sp.

| Berçário | Sorotipo | <i>S. typhimurium</i> | <i>S. newport</i> | <i>S. minnesota</i> |
|----------|----------|---|-------------------|---|
| D | | N-sonda de aspirador PI-pó de leito vazio | | |
| M | | | N-pó de persiana | |
| R | | N-água com fisohex N-pó de varredura (2 cepas) N-mesa de exame N-carro de transporte de RN N-parapeito de janela PI-água de sonda de aspirador PI-pó de 2 isoletes | | N-pó-de-varredura PI-pó-de-varredura |
| T | | AR-pó de 3 berços AR-balcão de pia AR-sonda de aspirador PI-pó de isolete PI-pó de 4 berços PI-berço de fototerapia PI-água de sonda PI-pomada ipoglós PI-bancada PI-bacia de banho PI-pó de janela | | |

N = sala de RN normal.

PI = sala de RN patológico com ou sem isolamento.

AR = sala de RN alto risco.

Verifica-se a ocorrência de bactérias patogênicas no ambiente da metade dos berçários pesquisados, variando a frequência desde o encontro de uma amostra no berçário G até 17 amostras no berçário T.

As bactérias patogênicas da família *Enterobacteriaceae*, encontradas nas coproculturas realizadas nos RN normais do dia do corte transversal e na alta, estão relacionados na tabela 10.

TABELA 9

Locais do meio ambiente dos berçários em que foi isolada Escherichia coli GEI

| <i>Escherichia coli</i> | 026 B6 | 0111 B4 | 0119 B14 | 0127 B8 |
|-------------------------|-------------|---------------|--|--------------------|
| Berçário | | | | |
| B | | | PI-aparelho de fototerapia PI-pó de 2 berços PI-pó de 2 isoletes | SO-pó de varredura |
| G | | N-pó de berço | | |
| T | PI-sabonete | | | |

PI = sala de RN patológico com ou sem isolamento.

SO = sala de admissão ou observação.

N = sala de RN normal.

TABELA 10

Bactérias patogênicas da família Enterobacteriaceae encontradas nas coproculturas de RN normais no dia do corte transversal e na alta

| Resultado | Dia do corte transversal | | Na alta | | Total |
|-----------|--|----------|---|----------|-------|
| | Positivo | Negativo | Positivo | Negativo | |
| Berçários | | | | | |
| A | 0 | 30 | 0 | 15 | 45 |
| B | 5 — <i>E. coli</i> 0119 B14 | 65 | 0 | 43 | 113 |
| C | 0 | 18 | 0 | 16 | 34 |
| D | 0 | 16 | 0 | 11 | 27 |
| E | 0 | 11 | 0 | 2 | 13 |
| G | 0 | 79 | 2 — <i>E. coli</i> 055 B5 1 — <i>E. coli</i> 0111 B4 | 79 | 161 |
| H | 0 | 35 | 0 | 23 | 58 |
| K | 1 — <i>E. coli</i> 0111 B4 | 12 | 0 | 6 | 19 |
| M | 1 — <i>E. coli</i> 0111 B4 3 — <i>E. coli</i> 0119 B14 | 210 | 1 — <i>E. coli</i> 026 B6 1 — <i>E. coli</i> 055 B5 3 — <i>E. coli</i> 0128 B12 | 142 | 361 |
| R | 1 — <i>E. coli</i> 0125 B15 1 — <i>S. typhimurium</i> | 26 | 1 — <i>E. coli</i> 0125 B15 | 17 | 46 |
| S | 0 | 22 | 0 | 18 | 40 |
| T | 2 — <i>E. coli</i> 0111 B4 2 — <i>E. coli</i> 0127 B8 1 — <i>E. coli</i> 0128 B12 1 — <i>S. typhimurium</i> | 87 | | | 93 |
| Total | 18 | 611 | 9 | 372 | 1.010 |

Verifica-se que em 5 berçários (B, K, M, R e T) foram encontrados enteropatógenos, em quantidades detectáveis pelos métodos empregados, em coprocultura de RN normais no dia do corte transverso e, em 3 berçários, por ocasião da alta. Apenas no berçário R houve coincidência no encontro do mesmo sorotipo de *E. coli* GEI, no dia do corte transverso, e no dia da alta.

Na tabela 11 estão relacionadas as bactérias patogênicas encontradas nas coproculturas realizadas em RN de alto risco.

Dos 140 RN, considerados de alto risco, em 23 foram isolados enteropatógenos, sendo detectada infecção dupla em dois casos. Em 3 berçários, as amostras foram negativas.

TABELA 11

Bactérias patogênicas da família Enterobacteriaceae isoladas dos fezes de RN de alto risco

| Berçário | Resultado | |
|----------|--|----------|
| | Positivo | Negativo |
| B | 1 — <i>E. coli</i> 0119 B14 | 4 |
| A | 1 — <i>S. agona</i> | 4 |
| C | 0 | 14 |
| D | 0 | 0 |
| E | 0 | 3 |
| G | 3 — <i>E. coli</i> 0111 B4 | 15 |
| H | 0 | 11 |
| K | 0 | 6 |
| M | 0 | 48 |
| R | 1 — <i>E. coli</i> 0127 B8 4 — <i>S. typhimurium</i> | 0 |
| S | 3 — <i>E. coli</i> 0111 B4 | |
| T | 8 — <i>S. typhimurium</i> 2 — <i>E. coli</i> 0111 B4 e <i>S. typhimurium</i> | 12 |
| Total | 23 | 117 |

Na tabela 12 estão relacionadas as bactérias patogênicas pertencentes à família *Enterobacteriaceae* encontradas nas coproculturas realizadas em RN patológicos, em regime de isolamento ou não.

Nas salas de RN patológicos, em regime de isolamento ou não, dentre 92 RN examinados 32 apresentaram coprocultura positiva. Em dois berçários foram detectados 3 casos de infecção dupla.

Os resultados das coproculturas realizadas nos RN nas salas de admissão, observação ou terapia intensiva estão na tabela 13.

Verifica-se que em todos os RN examinados não houve coprocultura positiva.

TABELA 12

Bactérias patogênicas da família Enterobacteriaceae isoladas de fezes de RN patológicos com ou sem isolamento

| Berçários | Resultado | |
|-----------|--|----------|
| | Positivo | Negativo |
| A | 1 — <i>E. coli</i> 0111 B4 1 — <i>E. coli</i> 0111 B4 e <i>S. typhimurium</i> | 0 |
| B | 13 — <i>E. coli</i> 0119 B14 | 7 |
| C | 1 — <i>S. typhimurium</i> | 10 |
| D | 0 | 1 |
| E | 0 | 0 |
| G | 0 | 8 |
| H | 0 | 17 |
| K | 2 — <i>E. coli</i> 0111 B4 | 1 |
| M | 1 — <i>E. coli</i> 0119 B14 | 6 |
| R | 2 — <i>E. coli</i> 0127 B8 2 — <i>S. typhimurium</i> | 1 |
| S | 0 | 2 |
| T | 1 — <i>E. coli</i> 0111 B4 5 — <i>S. typhimurium</i> 2 — <i>E. coli</i> 0111 B4 e <i>S. typhimurium</i> 1 — <i>E. coli</i> 026 B6 e <i>S. typhimurium</i> | 7 |
| Total | 32 | 60 |

TABELA 13

Bactérias patogênicas da família Enterobacteriaceae isoladas de fezes de RN nas salas de admissão, observação ou terapia intensiva

| Berçários | Resultado | |
|-----------|-----------|----------|
| | Positivo | Negativo |
| A | — | — |
| B | — | — |
| C | 0 | 20 |
| D | — | — |
| E | — | — |
| G | 0 | 11 |
| H | 0 | 2 |
| K | — | — |
| M | 0 | 16 |
| R | — | — |
| S | — | — |
| T | 0 | 3 |
| Total | 0 | 52 |

Observação: as casas vazias (—) indicam que a sala não foi localizada.

Na figura 2 são apresentados os dados comparativos aos quatro grupos estudados. É marcante a elevada freqüência de enteropatógenos nos RN patológicos e em isolamento (34,8%), decrescendo para 16,4% em RN de alto risco, 2,9% entre RN normais, até

ausência no grupo de admissão, observação e terapia intensiva de RN.

As bactérias patogênicas encontradas nas fezes de funcionários foram discriminadas na tabela 14.

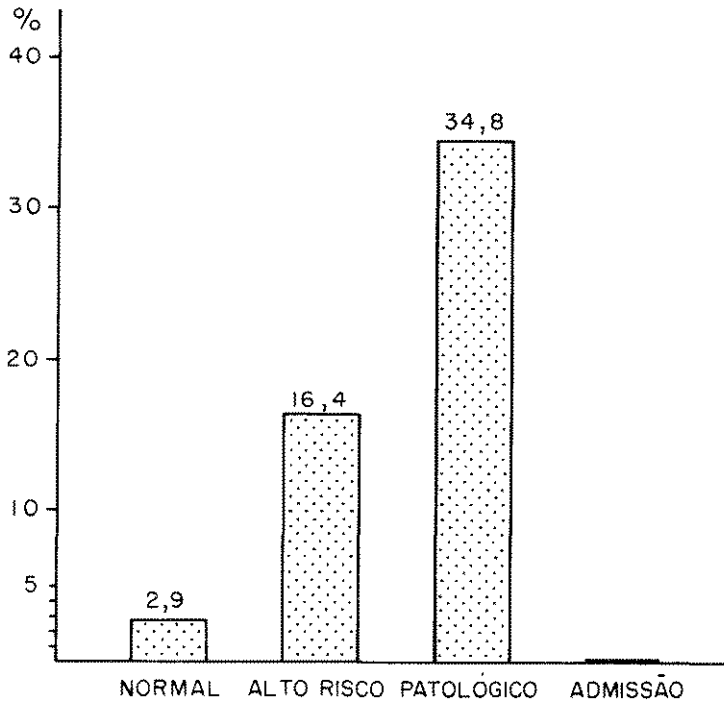


FIGURA 2 — Percentual de positividade encontrado nas coproculturas, no dia do corte transversal, em RN normais, RN de alto risco, RN patológicos com ou sem isolamento e RN na admissão, observação e terapia intensiva.

TABELA 14

Bactérias patogênicas da família Enterobacteriaceae isoladas de fezes de funcionários

| Berçários | Resultado | Berçários | |
|-----------|-----------------------------|-----------|----------|
| | | Positivo | Negativo |
| A | 0 | | 4 |
| B | 0 | | 11 |
| C | 1 — <i>S. agona</i> | | 10 |
| | 1 — <i>S. infantis</i> | | |
| D | 0 | | 5 |
| E | 1 — <i>E. coli</i> 055 B5 | | 24 |
| | 1 — <i>E. coli</i> 086 B7 | | |
| G | 1 — <i>E. coli</i> 0127 B8 | | 39 |
| | 1 — <i>E. coli</i> 0128 B12 | | |
| H | 0 | | 4 |
| K | 0 | | 14 |
| M | 1 — <i>E. coli</i> 0125 B15 | | 122 |
| | 1 — <i>E. coli</i> 0127 B8 | | |
| | 1 — <i>E. coli</i> 0128 B12 | | |
| R | 0 | | 5 |
| S | 0 | | 16 |
| T | | | |
| Total | | 9 | 254 |

Foram detectados em 4 berçários funcioná- rios portadores de enteropatógenos.

Cotejando as tabelas 10, 11, 12, 13 e 14, verificamos que apenas numa ocasião o sorotipo isolado das fezes de um funcionário (berçá- rio M) coincidiu com o encontrado nas fezes

de 3 RN do mesmo berçário por ocasião da alta.

Na tabela 15 estão relacionados os perfis de resistência aos antibióticos testados de todas as enterobactérias patogênicas discrimi- nadas em relação ao berçário e à origem do material.

TABELA 15

Perfis de resistência das enterobactérias patogênicas isoladas nos vários materiais examinados

(Continua)

| Berçário | Material | Bactéria | Número | Antibióticos | | | | | | | | | |
|----------|-------------------------|-------------------------|--------|--------------|----|---|---|---|----|----|----|----|--|
| | | | | Am | Lr | S | K | C | Te | Gm | Na | Cl | |
| A | Fezes RN (AR) | <i>E. coli</i> 0119 B14 | 1 | R | R | R | R | S | R | S | S | S | |
| | Fezes RN (PI) | <i>E. coli</i> 0111 B4 | 2 | R | R | R | R | R | R | S | S | S | |
| | | <i>S. typhimurium</i> | 1* | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| B | Fezes RN (AR) | <i>S. agona</i> | 1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | |
| | Fezes RN normal | <i>E. coli</i> 0119 B14 | 4 | R | R | R | R | S | R | S | S | S | |
| | | | 1 | R | R | R | R | R | R | S | S | R | |
| | Fezes RN (PI) | <i>E. coli</i> 0119 B14 | 7 | R | R | R | R | S | R | S | S | S | |
| | | | 2 | R | R | R | R | S | R | S | R | S | |
| | | | 3 | R | R | R | R | R | R | S | R | S | |
| | | | 1 | R | R | R | R | R | R | S | S | S | |
| | Ambiente sala RN (PI) | <i>E. coli</i> 0119 B14 | 4 | R | R | R | R | S | R | S | S | S | |
| | Leito subungueal | <i>E. coli</i> 0119 B14 | 1 | R | R | R | R | S | R | S | S | S | |
| | Ambiente (SO) | <i>E. coli</i> 0127 B8 | 1 | R | R | R | R | S | R | S | S | S | |
| C | Fezes de RN (PI) | <i>S. typhimurium</i> | 1 | R | R | R | R | R | R | S | R | S | |
| | Fezes de funcio- nários | <i>S. agona</i> | 1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | |
| | | <i>S. infantis</i> | 1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | |
| D | Sala RN normal | <i>S. typhimurium</i> | 1 | R | R | R | R | R | R | R | R | S | |
| | Ambiente sala RN (PI) | <i>S. typhimurium</i> | 1 | R | R | R | R | R | R | R | R | S | |
| E | Fezes de funcio- nários | <i>E. coli</i> 086 B7 | 1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | |
| | | <i>E. coli</i> 055 B5 | 1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | |
| G | Fezes RN alta | <i>E. coli</i> 0111 B4 | 1 | S | S | R | R | S | R | S | S | S | |
| | | <i>E. coli</i> 055 B5 | 1* | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| | Fezes RN (AR) | <i>E. coli</i> 0111 B4 | 2 | S | S | R | R | S | R | S | S | S | |
| | Fezes de funcio- nários | <i>E. coli</i> 0127 B8 | 1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | |
| | | <i>E. coli</i> 0128 B12 | 1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | |
| | Ambiente sala RN normal | <i>E. coli</i> 0111 B4 | 1 | S | S | R | R | S | R | S | S | S | |
| K | Fezes RN | <i>E. coli</i> 0111 B4 | 1 | R | R | R | R | R | R | S | S | S | |
| | Fezes RN (PI) | <i>E. coli</i> 0111 B4 | 1 | R | R | R | R | R | R | S | S | S | |
| | | | 1 | R | R | R | R | R | S | S | S | S | |
| M | Fezes RN normal | <i>E. coli</i> 0111 B4 | 1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | |
| | | <i>E. coli</i> 0119 B14 | 3 | R | S | R | R | R | S | S | S | S | |
| | Fezes RN alta | <i>E. coli</i> 055 B5 | 1 | S | S | S | S | S | R | S | S | S | |
| | | <i>E. coli</i> 026 B6 | 1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | |
| | | <i>E. coli</i> 0128 B12 | 3 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | |
| | Fezes RN (PI) | <i>E. coli</i> 0119 B14 | 1 | S | S | R | R | R | R | S | S | S | |
| | Fezes de funcio- nários | <i>E. coli</i> 0125 B15 | 1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | |
| | | <i>E. coli</i> 0127 B8 | 1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | |
| | | <i>E. coli</i> 0128 B12 | 1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | |
| | Ambiente | <i>S. newport</i> | 1 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | |

(Conclusão)

| Berçário | Material | Bactéria | Número | Antibióticos | | | | | | | | | |
|-----------------------|-------------------------|-------------------------|--------|--------------|----|---|---|---|----|----|----|----|---|
| | | | | Am | Lr | S | K | C | Te | Gm | Na | C1 | |
| R | Fezes RN normal | <i>E. coli</i> 0125 B15 | 1 | R | R | R | R | R | R | R | S | S | S |
| | | <i>S. typhimurium</i> | 1 | R | R | R | R | R | R | S | R | R | S |
| | Fezes RN alta | <i>E. coli</i> 0125 B15 | 1 | R | R | R | R | R | R | S | S | R | S |
| | | <i>E. coli</i> 0127 B8 | 1 | R | R | R | R | R | R | R | S | S | S |
| | Fezes RN (AR) | <i>S. typhimurium</i> | 4 | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S |
| | | <i>E. coli</i> 0127 B8 | 2 | R | R | R | R | R | R | R | S | S | S |
| | Fezes RN (PI) | <i>S. typhimurium</i> | 1 | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S |
| | | <i>S. typhimurium</i> | 1 | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S |
| | | <i>S. typhimurium</i> | 1 | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S |
| | Leite | <i>S. typhimurium</i> | 1 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S |
| | | <i>S. typhimurium</i> | 4 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S |
| | Ambiente sala RN normal | <i>S. typhimurium</i> | 1 | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S |
| | | <i>S. typhimurium</i> | 1 | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S |
| | | <i>S. minnesota</i> | 1 | R | R | R | R | S | S | S | S | R | S |
| | Ambiente sala RN (PI) | <i>S. typhimurium</i> | 2 | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S |
| <i>S. typhimurium</i> | | 1 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | |
| <i>S. minnesota</i> | | 1 | R | R | R | R | S | S | S | S | R | S | |
| T | Fezes RN normal | <i>E. coli</i> 0127 B8 | 2 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| | | <i>E. coli</i> 0111 B4 | 1 | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S |
| | Fezes RN (AR) | <i>E. coli</i> 0128 B12 | 1 | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S |
| | | <i>S. typhimurium</i> | 1 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S |
| | | <i>E. coli</i> 0111 B4 | 2 | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S |
| | | <i>S. typhimurium</i> | 2 | S | S | R | R | R | R | R | S | R | S |
| | | <i>S. typhimurium</i> | 1 | S | S | R | R | R | R | S | S | R | S |
| | Fezes RN (PI) | <i>S. typhimurium</i> | 2 | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S |
| | | <i>E. coli</i> 0111 B4 | 8 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S |
| | | <i>E. coli</i> 0111 B4 | 1 | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S |
| | Leito subvngueal | <i>E. coli</i> 0111 B4 | 1 | R | R | R | R | R | R | R | S | S | S |
| | | <i>E. coli</i> 026 B6 | 1* | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | <i>S. typhimurium</i> | 1 | R | R | R | R | R | R | R | R | S | S |
| | Líquido de hidratação | <i>S. typhimurium</i> | 7 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S |
| | | <i>S. typhimurium</i> | 1 | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S |
| Ambiente sala (AR) | <i>E. coli</i> 0111 B4 | 1 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | |
| | <i>S. typhimurium</i> | 1 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | |
| Ambiente sala RN (PI) | <i>S. typhimurium</i> | 1 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | |
| | <i>E. coli</i> 026 B6 | 2 | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S | |
| | <i>S. typhimurium</i> | 2 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | |
| | <i>E. coli</i> 026 B6 | 1 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | |
| | <i>S. typhimurium</i> | 6 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | |
| | <i>S. typhimurium</i> | 4 | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S | |
| | <i>S. typhimurium</i> | 1 | R | R | R | R | R | S | R | R | R | S | |

* Cepa perdida.

R = resistente.

S = sensível.

Verifica-se que os enteropatógenos isolados de fezes de funcionários, bem como de RN, na alta, e alguns sorotipos isolados do meio ambiente apresentam um alto grau de sensibilidade em marcante contraste com o perfil da maioria das cepas de sorotipos específicos, havendo também uma clara diferença no comportamento de um mesmo sorotipo em relação aos padrões de sensibilidade. Estes resultados

estão apresentados de maneira bastante evidente na tabela 15. Nesta tabela é digno de nota o fato de que as 55 cepas de *S. typhimurium* se resumem praticamente em 2 grupos de resistência, variando apenas na sensibilidade à gentamicina. Também com *E. coli* 0119 B14 encontramos uma condensação em torno do mesmo perfil de resistência em 57% das cepas isoladas. Este fato não ocorreu com nenhum dos outros sorotipos isolados.

TABELA 16

Relação dos vários tipos de modelos de resistência encontrados

| Bactérias Modelos de resistência | <i>S. typhimurium</i> | <i>S. agona</i> | <i>S. minnesota</i> | <i>S. newport</i> | <i>S. infantis</i> | <i>E. coli</i> 0119 B11 | <i>E. coli</i> 0111 B 4 | <i>E. coli</i> 0127 B 8 | <i>E. coli</i> 0128 B12 | <i>E. coli</i> 026 B 6 | <i>E. coli</i> 0125 B15 | <i>E. coli</i> 055 B 5 | <i>E. coli</i> 086 B 7 | Total |
|-------------------------------------|-----------------------|-----------------|---------------------|-------------------|--------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-------|
| | | | | | | | | | | | | | | |
| Cepas sensíveis * | | 2 | | 1 | 1 | | 1 | 4 | 5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 18 |
| Te | | | | | | | | | | | | 1 | | 1 |
| Lr, Te | | | | | | | | | 1 | | | | | 1 |
| S, Te | | | | | | | 1 | | | | | | | 1 |
| Am, Lr, S | | | 2 | | | | | | | | | | | 2 |
| S, K, Te | | | | | | | 4 | | | | | | | 4 |
| Am, Lr, K, Te | | | | | | 1 | | | | | | | | 1 |
| Am, S, K, C | | | | | | 3 | | | | | | | | 3 |
| S, K, C, Te | | | | | | 1 | | | 1 | | | | | 2 |
| S, K, C, Na | | | | | | | 1 | | | | | | | 1 |
| Am, Lr, S, K, C | | | | | | | 1 | | | | | | | 1 |
| Am, Lr, S, K, Te | | | | | | 16 | 1 | 1 | | | | | | 18 |
| S, K, C, Te, Na | | | | | | | 2 | | | | | | | 2 |
| Am, Lr, S, K, C, Te | | | | | | 1 | 5 | 3 | | | 1 | | | 10 |
| Am, Lr, S, K, C, Na | 1 | | | | | | 1 | | | | 1 | | | 3 |
| Am, Lr, S, K, Te, Na | | | | | | 2 | | | | | | | | 2 |
| Am, Lr, S, K, C, Te, Gm | | | | | | | | | | 2 | | | | 2 |
| Am, Lr, S, K, C, Te, Na | 20 | | | | | 3 | 3 | | | | | | | 26 |
| Am, Lr, S, K, C, Te, Cl | | | | | | 1 | | | | | | | | 1 |
| Am, Lr, S, K, C, Gm, Na | 1 | | | | | | | | | | | | | 1 |
| Am, Lr, S, K, Te, Gm, Na | 1 | | | | | | | | | | | | | 1 |
| Am, Lr, S, K, C, Te, Gm, Na | 32 | | | | | | 2 | | | | | | | 34 |
| Total | 55 | 2 | 2 | 1 | 1 | 28 | 22 | 8 | 6 | 4 | 3 | 2 | 1 | 135 |

* Cepas sensíveis a todos os antibióticos testados.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A análise global das amostras recolhidas de alimentos, do leite subungueal e do ambiente (tabela 2) permite a divisão dos berçários em dois grupos. O primeiro, que apresenta um índice de contaminação de 4,9% a 8,7%, constituído pelos berçários E, C, K, M, H, G, S e o segundo, como um nível de contaminação de 14,4% a 25,2%, em que se incluem os berçários B, A, T, D, R. No primeiro grupo estão os 2 berçários de hospital estatal, com organização modelar (C, H), 2 de hospitais-escola (G, K), um de maternidade com atendimento exclusivamente particular (E), um de maternidade particular com atendimento previdenciário, com uma média de 70 partos por dia (M) e outro de hospital particular com atendimento previdenciário (S). Este último estava com seu movimento prejudicado, em virtude da inundação ocasionada pelo transbordamento do rio Tamanduateí poucos dias antes da visita.

O segundo grupo é constituído por berçários de organizações assistenciais com ou sem atendimento previdenciário e de hospitais gerais com atendimento previdenciário predominante.

Grande parte do primeiro grupo é formada por berçários que, ou por atenderem a uma faixa mais "nobre" da população, ou por pertencerem a hospitais de ensino, têm condições de manter alguma infra-estrutura. Reforço desta imagem é dada pela observação da tabela 3, quando a quase totalidade das amostras de leite e líquidos de hidratação oral contaminadas se encontrava no segundo grupo, sendo que em dois berçários também foram isoladas cepas de *S. typhimurium*.

A tabela 4 relaciona o percentual de contaminação do leite subungueal à categoria funcional, fato evidente a uma análise superficial. Entretanto, a realidade é bem diferente pois, na maioria dos berçários pesquisados, a quase totalidade do trabalho é realizada apenas pelas atendentes. Em 6 dos berçários havia uma auxiliar de enfermagem e em 2, apenas atendentes. A existência exclusiva de atendentes, sem a presença de um número razoável de auxiliares de enfermagem, para não falar no óbvio que seria a presença efetiva de pessoal de nível universitário nas várias dependências do berçário, é uma temeridade.

As mãos têm um papel de primordial importância na transmissão passiva de enteropatógenos de um RN para outro^{24, 30, 31, 37}. É interessante assinalar que, em uma determinada oportunidade, em dois berçários diferentes foram isolados *E. coli* GEI, das mãos das atendentes. A importância da lavagem das mãos está bem evidenciada pelos resultados obtidos no berçário R onde, por erro de técnica, os funcionários tiveram conhecimento prévio da pesquisa e escovaram cuidadosamente as mãos.

O percentual médio de positividade de contaminação do leite subungueal obtido no nosso estudo (24,6%) foi menor do que o encontrado por Horwood & MINCH³², entre manipuladores

de alimentos em Boston, onde foi isolada *E. coli* em 38,6% das mãos testadas. Entretanto, foi maior do que o encontrado por PETHER & GILBERT³³ que encontraram 11,8% de *E. coli* nas mãos de açougueiros, não tendo detectado *E. coli* em 100 voluntários do Laboratório Central de Saúde Pública de Londres.

É interessante que as puerperas da maternidade T apresentaram um nível de *E. coli* no leite subungueal de 15,8% (tabela 5). Estas puerperas pertencem às mais baixas classes sociais e se dirigem a esta maternidade por não pertencerem à população previdenciária, sendo totalmente carentes de recursos. Nesta maternidade são elas que realizam as tarefas de atendentes, dormindo muitas vezes acompanhadas de seus RN, duas a duas na mesma cama.

É digno de nota que nos berçários, não raro, a separação entre RN normais e de alto risco e RN patológicos, com ou sem regime de isolamento, era feita de maneira muito precária, sendo que em 3 berçários todos RN permaneciam no mesmo ambiente (tabela 6). O nível de contaminação encontrado foi bastante variado com um percentual às vezes muito elevado. Entretanto, a negatividade dos materiais coletados na sala de observação do berçário G, na unidade de terapia intensiva do berçário M e na de RN patológicos do berçário S demonstram que a contaminação fecal não é um apanágio obrigatório do berçário.

O encontro de *E. coli* em lactários e centro obstétrico (tabela 7) é fator importante no mecanismo das infecções. Apesar de haver autoclavagem terminal das mamadeiras, há possibilidade de contaminação deste material pelos funcionários ainda dentro do lactário. O centro obstétrico é parte do centro cirúrgico, portanto não é admissível o encontro de bactérias indicadoras de contaminação fecal. Este encontro sugere deficiência no preparo da parturiente, constituindo um elo importante no mecanismo das infecções nos berçários^{1, 23, 30, 37, 38}, além de demonstrar falta de desinfecção correta do ambiente após o parto.

A maior surpresa foi o encontro de uma variedade significativa de sorotipos de *Salmonella* sp. e *E. coli* GEI nas mais variadas localizações, em metade dos berçários visitados (tabelas 8 e 9). O achado de 38 cepas de enteropatógenos, presentes praticamente em todo o meio ambiente, e a ausência de denúncia da ocorrência de surtos de qualquer origem, pois os berçários funcionavam normalmente no momento da pesquisa, colocam, a nosso ver, estes enteropatógenos entre os microrganismos pertencentes a microbiota normal. É interessante que em apenas 2 berçários do primeiro grupo o encontro foi positivo.

A presença de *E. coli* GEI e principalmente a de *Salmonella* sp. é de alta periculosidade pois, se a primeira tem capacidade de sobreviver por período de 2 a 4 semanas na poeira^{30, 31}, a segunda pode sobreviver por 10 meses na poeira³¹ e por muitos dias no equipamento

hospitalar²². Os locais de onde foram isolados estes enteropatógenos são os mais variados e todos já foram responsabilizados por surtos epidêmicos^{11, 20, 22, 49, 53, 54, 71, 72, 82}.

Chama a atenção o predomínio do encontro de *S. typhimurium* nas salas com RN de alto risco, RN patológicos com e sem isolamento, pois é este grupo que adquire salmonelose com frequência relativamente maior, sendo mais suscetível a localizações extra-entericas^{6, 10, 20, 24, 53, 54}.

Entretanto, a existência de enteropatógenos no ar ou na poeira das enfermarias não determina que seja esta a fonte mais importante de infecções cruzadas²³.

Como na cadeia epidemiológica das infecções em berçários a existência de bactérias patogênicas nas fezes dos RN tem importância significativa não só na introdução^{46, 55, 59}, como também na manutenção^{22, 24, 27, 80}, estudou-se a extensão do problema em nosso meio.

Provavelmente devido às normas previdenciárias em vigor, a permanência dos RN normais nos hospitais não ultrapassa normalmente o prazo de 2 dias. Entretanto, em 5 berçários (tabela 10) houve o encontro de enteropatógenos nas fezes de RN normais, achado significativo pois, além do curto período de permanência, no dia em que se realizou corte transversal estavam incluídos todos RN normais, inclusive os de partos recentes. Esta colonização, bastante precoce por uma variedade de bactérias patogênicas, reforça a idéia de sua participação íntima na microbiota normal do universo do berçário.

Corolário do exposto é o encontrado nas tabelas 11 e 12 onde é evidente o aumento do isolamento de enteropatógenos nas fezes tanto dos RN de alto risco como nos patológicos. Pela primeira vez temos o aparecimento de infecções múltiplas em dois berçários.

É digno de nota que nas fezes de 16 RN (tabela 13) da sala de terapia intensiva do berçário M não foi constatada a presença de enteropatógenos. Este achado está inteiramente relacionado com a ausência de contaminação observada no meio ambiente (tabela 6). A negatividade do material colhido de RN da sala de admissão ou observação dos outros berçários deve-se à utilização destas salas como transição entre o local de parto, seja hospitalar ou externo, e o berçário propriamente dito.

Os resultados das coproculturas dos RN na ocasião da alta (tabela 10) apresentam um desencontro com os achados das coproculturas no dia do corte transversal; houve coincidência apenas em uma amostra do berçário R, indicando a existência de uma somatória de causas a serem ainda esclarecidas.

O reflexo da influência do universo do berçário na positividade das coproculturas é evidente na figura 2, quando o percentual maior de positividade está entre os RN patológicos, em marcante contraste com os achados

dos RN da unidade de terapia intensiva do berçário M, quando todos os resultados foram negativos.

Os funcionários já foram responsabilizados pela introdução de enteropatógenos nos berçários por vários autores^{23, 50, 73, 74}. Porém em nosso meio, aparentemente, sua importância na cadeia epidemiológica é no momento questionável, pois os sorotipos encontrados foram diferentes daqueles isolados do meio ambiente e das fezes de RN. Apenas na maternidade M foi encontrado o mesmo sorotipo nas fezes de um funcionário e nas de três RN por ocasião da alta (tabela 10).

Como a nossa amostragem foi constituída praticamente por fezes de atendentes, é possível que este achado reflita as condições sócio-econômicas e culturais desta categoria para a qual só é exigido o curso primário e o aprendizado é totalmente prático.

Bastante interessante é a análise do comportamento face aos antibióticos dos sorotipos das bactérias enteropatógenicas isoladas do universo do berçário em relação à origem e à procedência do material (tabela 15). Assim, as estirpes isoladas de coprocultura dos funcionários apresentam uma sensibilidade total aos antibióticos, o mesmo acontecendo com a quase totalidade das linhagens isoladas dos RN por ocasião da alta.

Quanto à resistência aos antibióticos, os berçários, que estão colonizados principalmente por *S. typhimurium*, apresentam um quadro muito mais sombrio do que os que estão colonizados por *E. coli* GEI ou por outros sorotipos de *Salmonella*. Entretanto, nos berçários B, R e T que têm uma contaminação maciça, o modelo de resistência parece ser praticamente o mesmo, independentemente das espécies bacterianas e mesmo do sorotipo. Provavelmente tudo se passa como se esta concentração de bactérias favorecesse um intercâmbio de DNA e extracromossômico, propiciando o aparecimento de modelos semelhantes de resistência aos antibióticos.

Ao exame da tabela 16, na qual estão tabulados os diferentes modelos de resistência, chama a atenção a *S. typhimurium* da qual 52 cepas dentre 55 apresentam dois modelos de resistência, um resistente a sete marcas de antibióticos que engloba 36,4% das amostras e outro resistente a oito marcas no qual estão 58,2% das amostras. Quando encontramos uma infecção maciça, os dois modelos estão presentes.

S. typhimurium é o sorotipo predominante em nosso meio em material de origem humana há relativamente pouco tempo. Até 1967 era apenas o quarto sorotipo encontrado por ordem de frequência⁵¹. O aumento de seu isolamento ocorreu concomitantemente com um surto epidêmico ocorrido em três hospitais gerais, com leitos de pediatria, iniciado no ano de 1968²⁵. A nosso ver, este sorotipo tornou-se endêmico, passando a pertencer à microbiota normal de berçários e enfermarias de pedia-

tria que tiveram suas condições ambientais agravadas também por mecanismos iatrogênicos.

Em relação a *E. coli* GEI, o sorotipo 0119 B14 tem um modelo predominante de resistência a 5 antibióticos que é apresentado por 16 amostras, refletindo, principalmente, o que ocorre no berçário B. Apesar de não terem sido isoladas do meio ambiente, todas estas amostras têm uma mesma origem e estão profundamente adaptadas ao meio ambiente desse berçário. O mesmo não aconteceu ainda nos outros berçários onde ela foi encontrada, o que é demonstrado pela diversidade de modelos de resistência verificados. Entretanto, a nosso ver, esta bactéria está em vias de apresentar um tipo de adaptação muito semelhante ao das cepas hospitalares da *S. typhimurium*.

Os outros sorotipos de *E. coli* apresentam uma distribuição sem grande domínio entre

os vários modelos de resistência. O principal é o 0111 B4, o primeiro dos sorotipos de *E. coli* causador da gastroenterite infantil descrito¹⁵. Esta bactéria foi responsabilizada por surtos epidêmicos em berçários^{68, 80, 81}, sendo o sorotipo mais freqüente neste último decênio, quando foi responsável por 57,8% dos isolamentos em nosso meio⁸⁰.

A análise dos perfis globais de resistência e sensibilidade aos vários antimicrobianos testados permite a divisão das estirpes de enteropatógenos em dois grupos com importância epidemiológica. As linhagens hospitalares, cujo principal representante é *S. typhimurium*, e as cepas de passagem, como *S. agona*, *S. minnesota*, *S. newport* e *S. infantis* e outros sorotipos.

Estes achados demonstram também a complexidade atual da microbiota do universo dos berçários.

RIALA6/508

PESSÓA, G.V.A.; SUGUIMORI, R.T.; IRINO, K.; RASKIN, M. & CALZADA, C.T. — Isolation of enteropathogenic bacteria in nurseries of Municipality of São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):107-127, 1980.

ABSTRACT: During the period of January to March 1976, it was analysed the contamination with enterobacteria and its mechanism of introduction and maintenance in 12 nurseries of Municipality of São Paulo. 4001 samples obtained from food, subungual area, faeces and environment were examined. It was detected faecal contamination in variable degree in all of the nurseries, including obstetric wards and milk dispensaries. The percentual variation of contamination permitted to divide the nurseries in two groups: the first, consists of seven nurseries which contamination degree was from 4.9% to 8.7% and the second varying from 14.4% to 25.2%. The finding of 38 strains of enteropathogenic bacteria in a half of nurseries, in various environmental localizations, demonstrates that these enteropathogens belonged to normal microbiota. The percentual average of positivity in faecal contamination from hospital staff's subungual area was 24.6%. The finding of enteropathogens in faeces samples from new-born babies showed an elevation in percentual of positivity, in proportion to the prolongation of them in nurseries. At present, in our environment, the enteropathogens isolated from hospital staff do not present an epidemiological significance, as their serotypes are different when compared with those isolated from new-born babies environment and faeces. According to the spectrum of resistance and sensitivity of the strains of enteropathogens bacteria to antimicrobial drugs, the authors divide them in two groups which present an epidemiological importance.

DESCRIPTORS: cross-infection; *Salmonella typhimurium*; *Salmonella* sp.; *Escherichia coli* GEI; hospital infections; salmonellosis; *Enterobacteriaceae* infections.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABRAMSON, H. — Infection with *Salmonella typhimurium* in the newborn. Epidemiologic and clinical considerations. *Amer. J. Dis. Child.*, 74:576-86, 1947.
2. ADLER, J.L.; ANDERSON, R.L.; BORING, J.R. & NAHMAS, A.J. — A protracted hospital-associated outbreak of Salmonellosis due to a multiple-antibiotic-resistant strain of *Salmonella indiana*. *J. Pediatr.*, 77:970-5, 1970.

3. ASERKOFF, B. & BENNETT, J.V. — Effect of antibiotic therapy in acute salmonellosis on the fecal excretion of *Salmonellae*. *New Engl. J. Med.*, 281:636-40, 1969.
4. BABINGTON, P.C.B.; BAKER, A.B. & JOHNSTON, H.H. — Retrograde spread of organisms from ventilator to patient via the expirator limb. *Lancet*, 1:61-2, 1971.
5. BADIANE, S.; DENIS, F. SOW, A.; CHIRON, J.P. & MAR, I.D. — Les méningites à salmonelles de l'enfant à propos de 50 cas. *Bull. Soc. méd. Afr. noire Langue franç.*, 22:181-90, 1977.
6. BAINE, W.B.; GANGAROSA, E.J.; BENNETT, J.V. & BARKER, W.H., Jr. — Institutional salmonellosis. *J. infect. Dis.*, 128:357-9, 1973.
7. BALDWIN, D.V.M. — The development of transferable drug resistance in *Salmonella* and its public health implications. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 157:1841-53, 1970.
8. BAPTISTA, D.D.; HUTZLER, R.U.; PESSÓA, G.V.A.; VASCONCELOS, R.F.; CORRADINI, H.B. & ULSON, C.M. — Bactérias aeróbias patogênicas gram-negativas em berçário fechado. *Pediat. prat.*, 45:181-8, 1974.
9. BARTLETT, R.C.; GROSCHEL, D.H.M.; MACKEL, D.C.; MALLISON, G.F. & SPAULDING, E.H. — B. Microbiological surveillance. In: LENNETTE, E.H.; SPAULDING, E.H. & TRUANT, J.P. — *Manual of clinical microbiology*. 2nd ed. Washington, D.C., Amer. Soc. Microbiol., 1974. p. 845-51.
10. BASTOS, C.O.; TAUNAY, A.E.; PESSÓA, G.V.A. & PAULA, A.B. — Meningite por germes do gênero *Salmonella*. Apreciação sobre 215 casos internados no hospital "Emílio Ribas" (São Paulo) durante o quinquênio 1958-1972. *Rev. Ass. méd. bras.*, 20:35-40, 1974.
11. BATE, J.G. & JAMES, U. — *Salmonella typhimurium* infection dust-borne in a children's ward. *Lancet*, 2:713-5, 1958.
12. BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C. & TURCK, M. — Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Amer. J. clin. Path.*, 45: 493-6, 1966.
13. BOHNHOFF, M. & MULLER, C.P. — Enhanced susceptibility to *Salmonella* infection in streptomycin-treated mice. *J. infect. Dis.*, 111:117-27, 1962.
14. BOWMER, E.J. — The challenge of salmonellosis; major public health problem. *Amer. J. med. Sci.*, 247:467-501, 1964.
15. BRAY, J. — Isolation of antigenically homogeneous strains of *Bact. coli neapolitanum* from summer diarrhoea of infants. *J. Path. Bact.*, 57:239-47, 1945.
16. BREVIGLIERI, J.C.; PESSÓA, G.V.A.; POMMER, V.M.; BALDACCI, E.R.; KANO, E.; IRINO, K. & RASKIN, M. — Sensibilidade antibiótica de germes enteropatógenicos clássicos em crianças internadas em uma unidade de emergência do Hospital das Clínicas da FMUSP. [Apresentado ao 20.º Congresso Brasileiro de Pediatria, Rio de Janeiro, 1977].
17. CANESE, A.; HAMUY, J.; SILVA, D.; TEME, B.; BAZAN, A. & OJEDA, N. — Infección a *Typhimurium* multirresistente em sala de pediatria. *Rev. Parasit. Microbiol.*, 7:91-4, 1972.
18. CHERUBIN, C.E.; NEU, H.C.; IMPERATO, P.J.; HARVEY, R.P. & BELLEN, N. — Septicemia with non-typhoid *Salmonella*. *Médecine*, 53:365-76, 1974.
19. CHMEL, H. & ARMSTRONG, D. — *Salmonella oslo*; a focal outbreak in a hospital. *Amer. J. Med.*, 60:203-8, 1976.
20. CLEMMER, D.I.; HICKEY, J.L.S.; BRIDGES, J.F.; SCHLIESSMANN, D.J. & SHAFFER, M.F. — Bacteriologic studies of experimental airborne salmonellosis in chicks. *J. infect. Dis.*, 106:197-210, 1960.
21. DARLOW, H.M.; BALE, W.R. & CARTER, G.B. — Infection of mice by the respiratory route with *Salmonella typhimurium*. *J. Hyg., Camb.*, 59:303-8, 1961.
22. DATTA, N.; PRIDIE, R.B. & ANDERSON, E.S. — An outbreak of infection with *Salmonella typhimurium* in a general hospital. *J. Hyg., Camb.*, 58:229-41, 1960.
23. DIXON, J.M.S. — Effect of antibiotic treatment on duration of excretion of *Salmonella typhimurium* by children. *Brit. med. J.*, 2:1343-5, 1965.
24. EPSTEIN, H.C.; HOCHWALK, A. & ASHE, R. — *Salmonella* infection of the newborn infant. *J. Pediat.*, 38:723-31, 1951.
25. GALIANA, J.; BIANCHI, I.; MONTANO DE FERLA, A.E.; DIAZ, S.; PIVEL DE GOMEZ, L.; ASCONEGUY, G. & LORENZO Y LOSADA, T. — Epidemia de salmonellosis en recién nacidos y lactantes del hospital "Pereira-Russell". *Arch. Pediat. Urug.*, 43:4-14, 1972.
26. GLENCROSS, E.J.G. — Pancreatin as a source of hospital-acquired salmonellosis. *Brit. med. J.*, 2:376-8, 1972.
27. GRIEBLE, H.G.; BIRD, T.J.; NIDEA, H.M. & MILLER, C.A. — Chute-hydropulping waste disposal system: a reservoir of enteric Bacilli and *Pseudomonas* in a modern hospital. *J. infect. Dis.*, 130:602-7, 1974.
28. GRISI, S.J.F.E.; BREVIGLIERI, J.C.; BALDACCI, E.R.; KANO, E.; IRINO, K.; CALZADA, C.T. & PESSÓA, G.V.A. — Prevalência de enterobactérias na infecção intra-hospitalar. [Apresentado ao 20.º Congresso Brasileiro de Pediatria, Rio de Janeiro, 1977].

29. HEMMINGS, V.G.; OVERALL, J.C., Jr. & BRITT, M.R. — Nosocomial infections in a newborn intensive-care unit. Results of forty-one months of surveillance. *New Engl. J. Med.*, 294:1310-6, 1976.
30. HEYAK, L.J. — Person-to-person spread of *Salmonella typhimurium*. *Lancet*, 1:637-8, 1975.
31. HORMAECHE, E.; PELUFFO, C.A. & ALEPPO, P.L. — Nueva contribución al estudio etiológico de las "diarreas infantiles de verano". Las "Salmonelas" en las enterocolitis de la infancia. *Arch. urug. Med.*, 9:113-62, 1936.
32. HORMAECHE, E.; SURRACO, N.L.; PELUFFO, C.A. & ALEPPO, P.L. — Nuevos estudios sobre las diarreas infantiles de origen infeccioso. *An. Inst. Hig. Montevideo*, 1:33-63, 1947.
33. HORWOOD, M.P. & MINCH, V.A. — The numbers and types of bacteria found on the hands of food handlers. *Food Res.*, 16:133-6, 1951.
34. HUTCHINSON, R.I. — *Escherichia coli* — (O-types 111, 55 and 26) and their association with infantile diarrhoea. A five-year study. *J. Hyg., Camb.*, 55:27-44, 1957.
35. IP, H.M.H.; SIN, W.K.; CHAU, P.Y.; TSE, D. & TEOH-CHAN, C.H. — Neonatal infection due to *Salmonella worthington* transmitted by a delivery-room suction apparatus. *J. Hyg., Camb.*, 77:307-14, 1976.
36. JOHSSON, M.; RUTBERG, L. & TUNEVALL, G. — Transferable resistance to antibiotics in gram-negative bacteria isolated in a hospital for infectious diseases. *Scand. J. infect. Dis.*, 4:209-19, 1972.
37. KASLOW, R.A.; TAYLOR, A., Jr.; DWECK, H.S.; STEELE, C.D. & CASSADY, G., Jr. — Enteropathogenic *Escherichia coli*. Infection in a newborn nursery. *Amer. J. Dis. Child.*, 128:797-801, 1974.
38. LANG, D.J.; KUNZ, L.J.; MARTIN, A.R.; SCHROEDER, S.A. & THOMSON, L.A. — Carmine as source of nosocomial salmonellosis. *New Engl. J. Med.*, 276:829-32, 1967.
39. LE MINOR, L.; COYNAULT, C. & PESSÓA, G. — Déterminisme plasmidique du caractère atypique "lactose positif" de souches de *S. typhimurium* et de *S. oranienburg* isolées au Brésil lors d'épidémies de 1971 a 1973. *Ann. Microbiol., Paris*, 125A:261-85, 1974.
40. LEFROCK, J.L. & KLAINER, A.S. — Nosocomial infections. Kalamazoo, Mich, Upjohn, [1976], 51 p. [Current concepts].
41. LEJEUNE, C.; HAYATE, P.; BOUVIER, M.L. & TEISSEIRE, B. — La prévention des infections entérales chez le nouveau né et le nourrisson en milieu hospitalier. *Cah. Med.*, 14:723-6, 1973.
42. LINTZ, D.; KAPILA, R.; PILGRIM, E.; TECSON, F.; DORN, R. & LOURIA, D. — Nosocomial *Salmonella* epidemic. *Arch. intern. Med.*, 136:968-73, 1976.
43. LOWBURY, E.J.L.; AYLIFFE, G.A.J.; GEDDES, A.M. & WILLIAMS, J.D. — *Control of hospital infection*. London, Chapman & Hall, 1975. 306 p.
44. MacGREGOR, R.R. & REINHART, J. — Person-to-person spread of *Salmonella*: a problem in hospitals? *Lancet*, 2:1001-3, 1973.
45. MAGALHÃES, M.; VERAS, A. & DAMASO, A. — Resistência transmissível à gentamicina em estirpes multirresistentes de *Salmonella typhimurium*. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 17:272-6, 1975.
46. MENDIS, N.M.; DE LA MOTTE, P.U.; GUNATILLAKA, P.D.P. & NAGARATNAM, W. — Protracted infection with *Salmonella bareilly* in a maternity hospital. *J. trop. Med. Hyg.*, 79:142-50, 1976.
47. MERED, B.; BENHASSINE, M.; PAPA, F.; KHATI, B.; KHEDDARI, M.; RAHAL, A. & SARI, L. — Epidémie a *Salmonella wien* et *Salmonella typhimurium* dans un service de Pédiatrie. Etude bactériologique et épidémiologique. *Arch. Inst. Pasteur Algér*, 48:41-52, 1977.
48. MIGUEL DE NADER, O.R.; VILLALONGA, J.F.; MINGO, Y. & RUIZ HOLGADO, A.A.P. — Frecuencia y prevalencia de Salmonelas em processos diarrreicos. *Rev. lat-amer. Microbiol.*, 15:71-4, 1973.
49. MORSE, E.V. & DUNCAN, M.A. — Salmonellosis; an environmental health problem. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 165:1015-9, 1974.
50. NETER, E. — Observations on the transmission of Salmonellosis in man. *Amer. J. publ. Hlth*, 40:929-33, 1950.
51. NEVA, F.A.; NELSON, R.J. & FINLAND, M. — Hospital outbreak of infections with *Salmonella newington*. *New Engl. J. Med.*, 244:252-5, 1951.
52. OLIVEIRA, C.A.C.; BREVIGLIERI, J.C.; BALDACCI, E.R.; KANO, E.; SIMONSEN, V.; IRINO, K. & PESSÓA, G.V.A. — Etiologia bacteriana em diarréia aguda em uma unidade de emergência do Hospital das Clínicas da FMUSP. [Apresentado ao 20.º Congresso Brasileiro de Pediatria, Rio de Janeiro, 1977].
53. ORLANDELLA, V. — Role of *S. Wien* in the epidemic epizootiology of Salmonellosis, zoonosis of dramatic distribution. *Int. J. Zoonoses*, 4:71-86, 1977.
54. PELLUFO, C.A. — Salmonellosis in South America. *Monogr. Biol.*, Haag, 13:476-506, 1964.

PESSÓA, G.V.A.; SUGUIMORI, R.T.; IRINO, K.; RASKIN, M. & CALZADA, C.T. — Isolamento de enterobactérias patogênicas em berçários do Município de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):107-127, 1980.

55. PESSÓA, G.V.A. — Sobre a ocorrência de uma variante de *Salmonella typhimurium* fermentadora da lactose. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 33:13-28, 1973.
56. PESSÓA, G.V.A.; CALZADA, C.T.; PEIXOTO, E.S.; MELLES, C.E.A.; KANO, E.; RASKIN, M.; SIMONSEN, V. & IRINO, K. — Ocorrência de bactérias enteropatogênicas em São Paulo no septênio 1970-76. III — Sorotipos de *Shigella* e de *Escherichia coli* da gastroenterite infantil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38:129-39, 1978.
57. PESSÓA, G.V.A.; HUTZLER, R.U.; STAPE, D.D.B.; RAMOS, J.L.A.; VASCONCELOS, R.F. & ULSON, C.M. — Pesquisa de *Salmonella typhimurium* nas fezes de doentes internados em hospital geral e nas de seus contactantes. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 15:151-60, 1973.
58. PESSÓA, G.V.A.; IRINO, K.; CALZADA, C.T. MELLES, C.E.A. & KANO, E. — Ocorrência de bactérias enteropatogênicas em São Paulo no septênio 1970-76. I — Sorotipos de *Salmonella* isolados e identificados. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38:87-105, 1978.
59. PESSÓA, G.V.A.; IRINO, K.; MELLES, C.E.A.; CALZADA, C.T.; RASKIN, M. & KANO, E. — Ocorrência de bactérias enteropatogênicas em São Paulo no septênio 1970-76. II — O surto epidêmico de *Salmonella typhimurium* em São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38:107-127, 1978.
60. PESSÓA, G.V.A. & PEIXOTO, E.S. — Caldoselenito-novobiocina. Um meio de maior seletividade para o isolamento de *Salmonella* de fezes. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 31:1-3, 1971.
61. PESSÓA, G.V.A. & SILVA, E.A.M. — Milieu pour l'identification présumptive rapide des entérobactéries, des *Aeromonas* et des vibrions. *Ann. Microbiol.*, Paris, 125A: 341-7, 1974.
62. PETHER, J.V.S. & GILBERT, R.J. — The survival of *Salmonellas* on finger-tips and transfer of the organisms to foods. *J. Hyg.*, Camb., 69:673-81, 1971.
63. PIERAERT, C.; LECLERC, H.; FARRIAUX, J.P. & FONTAINE, G. — Une épidémie a *Salmonella wien* dans un service de pédiatrie. *Pédiatrie*, 29:595-606, 1974.
64. POMMER, V.M.; BALDACCI, E.R.; PESSÓA, G.V.A.; GRISI, S.J.F.E., SIMONSEN, V.; CALZADA, C. & LEE, I.L. — Bacteremia ou septicemia acompanhando diarréia aguda. [Apresentado ao 20.º Congresso Brasileiro de Pediatria, Rio de Janeiro, 1977].
65. PRADO, V.; DONOSO, E.M. & ZILLERUELO, G. — Infección enteral por *Salmonella typhimurium* en lactentes y la sensibilidad *in vitro* de este germen patógeno a 7 antibióticos. *Rev. chil. Pediat.*, 42: 91-6, 1971.
66. RICE, P.A.; CRAVEN, P.C. & WELLS, J.G. — *Salmonella heidelberg* enteritis and bacteremia: an epidemic on two pediatric wards. *Amer. J. Med.*, 60:509-16, 1976.
67. ROCHA, E. — Salmonellosis in infants. *Envir. child Hlth*, 21:60-3, 1975.
68. ROGERS, K.B. — The spread of infantile gastro-enteritis in a cubicle ward. *J. Hyg.*, Camb., 49:140-51, 1951.
69. ROSE, H.D. & SCHREIER, J. — The effect of hospitalization and antibiotic therapy on the gram-negative fecal flora. *Amer. J. med. Sci.*, 255:228-36, 1968.
70. ROSENSTEIN, B.J. — Salmonellosis in infants and children; epidemiologic and therapeutic considerations. *J. Pediat.*, 70: 1-7, 1967.
71. ROWE, B.; GILES, C. & BROWN, G.L. — Outbreak of gastroenteritis due to *Salmonella virchow* in a maternity hospital. *Brit. med. J.*, 3:561-4, 1969.
72. RUBBO, S.D. — Cross-infection in hospital due to *Salmonella derby*. *J. Hyg.*, Camb., 46:158-63, 1948.
73. RUBENSTEIN, A.D. & FOWLER, R.N. — Salmonellosis of the newborn with transmission by delivery room resuscitators. *Amer. J. publ. Hlth*, 45:1109-14, 1955.
74. SCHELOTTO, F.; RIVAS, C.; ALIA DE MONTERO, C. & COLENSKY, L. — Características de las cepas de *Salmonella typhimurium* multirresistentes produtoras de infecciones cruzadas em hospitales pediátricos. *Rev. lat.-amer. Microbiol.*, 17: 9-16, 1975.
75. SCHROEDER, S.A.; ASERKOFF, B. & BRACHMAN, P.S. — Epidemic salmonellosis in hospitals and institutions. A five-year review. *New. Engl. J. Med.*, 279: 674-8, 1968.
76. SCHUSSEL, E.S.; RUSSOWSKY, R.R.; ALMEIDA, M.M.; ROSSI, C.V.; MURAHOUSCHI, J.; SOUZA, W.P.; PESSÓA, G.V.A. & IRINO, K. — Infecção intra-hospitalar por *Salmonella typhimurium* e sua provável disseminação por via aérea. Estudo prospectivo realizado em 207 lactentes de 0-1 ano, SP. [Apresentado a Congressos Pediátricos, São Paulo, 1975].
77. SELIGMANN, E. — Mass invasion of *Salmonellae* in babies's ward. *Ann. Pédiat.*, Paris, 172:406-8, 1949.
78. SEPETJJAN, M.; CHASSIGNOL, S.; GILLET, P. & THOMAS, A. — Enquête d'un service d'Hygiene Hospitalière sur une épidémie à *Salmonella wien* dans un Hospital d'enfants. *Pédiatrie*, 28:847-57, 1973.

PESSÓA, G.V.A.; SUGUIMORI, R.T.; IRINO, K.; RASKIN, M. & CALZADA, C.T. — Isolamento de enterobactérias patogênicas em berçários do Município de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):107-127, 1980.

79. SKANSBERG, P.; BELFRAGE, S.; ERICSON, C. & RENMARKER, K. — Bacteremia: the significance of outside versus inside hospital origin. *Scand. J. infect. Dis.*, 7:29-33, 1975.
80. STEERE, A.C.; HALL III, W.J.; WELIS, J.G.; CRAVEN, P.J.; LEOTSAKIS, N.; FARMER III, J.J. & GANGAROSA, E.J. — Person-to-person spread of *Salmonella typhimurium* after a hospital common-source outbreak. *Lancet*, 1:319-321, 1975.
81. TAUNAY, A.E. — *Diagnóstico bacteriológico das salmonelas de origem animal, sua importância e frequência no município de São Paulo*. São Paulo, 1967. 61 p. [Tese — Faculdade de Odontologia de São José dos Campos].
82. TAUNAY, A.E.; BASTOS, C.O. & MARTINS, H. — Surto epidêmico de meningite por *Salmonella crupensis*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 24:45-9, 1964.
83. TAUNAY, A.E.; BICUDO, J.C.S.; CORRÊA, A. & PEIXOTO, E.S. — Estudo bacteriológico da diarréia de recém-nascido. *Hospital*, Rio de J., 49:625-34, 1956.
84. TAUNAY, A.E.; MARTINS, H.; TOPOROWSKI, J.; TOLEDO, L.A. & PEIXOTO, E.S. — Investigações laboratoriais sobre a enterite infantil por *E. coli* G.E.I. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 18:45-81, 1958.
85. TAUNAY, A.E.; NOVAES, J.R.C. & PESSÓA, G.V.A. — Infecções por enterobactérias no município de São Paulo. Provável disseminação por via aérea. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 31:113-6, 1971.
86. TEOH-CHAN, C.H.; CHAU, P.Y.; TSE, D.; SIN, W.K.; IP, H.M.H. & LAN, R. — Hospital *Salmonella johannesburg* infection and its possible role in the community spread of the infection in Hong-Kong. *J. Hyg., Camb.*, 78:113-9, 1977.
87. VAN OYE, E.; RICHARD, J.; MOINET, J. & VAN GOETHEM, H. — Role probable des poussières dans une épidémie hospitalière par entérobactéries (*Salmonella* et *Escherichia coli* pathogènes). *Presse méd.*, 71:2241-3, 1963.
88. WATT, J.; WEGMAN, M.E.; BROWN, O.W.; SCHLIESSMANN, D.J.; MOUPIN E. & HEMPHILL, E.C. — Salmonellosis in a premature nursery unaccompanied by diarrheal disease. *Pediatrics*, 22:689-705, 1958.
89. WRIGHT, J.; RODEN, A.T. & VILLANUEVA, R. — *Escherichia coli* 0 55 B 5 infection in a gastro-enteritis ward; epidemiological applications of H antigen type determinations. *Amer. J. Hyg.*, 58:133-47, 1953.

Recebido para publicação em 30 de junho de 1980

RELAÇÃO UMIDADE/PROTEÍNA DE SALSICHAS ENLATADAS E SEU COMPORTAMENTO EM FUNÇÃO DO TEMPO DE PROCESSAMENTO*

Pasqual MUCCILO**

Dirceu Rodrigues MEIRA**

Messias, C.G. GOMES***

RIALA6/509

MUCCILO, P.; MEIRA, D.R. & GOMES, M.C.G. — Relação umidade/proteína de salsichas enlatadas e seu comportamento em função do tempo de processamento. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):129-134, 1980.

RESUMO: A relação umidade/proteína de 40 amostras de salsichas enlatadas produzidas no Estado de São Paulo apresentou ampla variação, com valores limites de 5,6 : 1 e 13,03 : 1, indicando sério comprometimento do teor protéico do produto. As correntes osmóticas, que se estabelecem entre a salsicha e o líquido do recipiente, revelaram-se, em 130 amostras, mais intensas com o processamento até o oitavo dia, quando se verificou tendência para estabilização do fenômeno. Os resultados globais da pesquisa indicam que a relação umidade/proteína de 3,50 : 1, exigida pelo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura, para salsichas enlatadas, não é obedecida, confirmando-se a necessidade de sua revisão para que, fixada em valor tecnologicamente mais correto, possa realisticamente adaptar-se às condições da rotina industrial.

DESCRITORES: salsicha enlatada, análise; salsicha enlatada, relação umidade/proteína.

INTRODUÇÃO

Em 1974, TAKINO *et alii*¹⁵ estudaram a relação umidade/proteína (u/p) de salsichas frescas, vendidas a granel nos mercados da Capital de São Paulo, concluindo que a maioria das amostras (82,5%) infringia o limite estabelecido pela legislação nacional que fixa em 3,5 : 1 aquela relação⁴. Embora os autores citados tivessem sugerido que essa relação legal precisava ser revista, para melhor refletir a realidade tecnológica, o assunto não chegou a sensibilizar as autoridades responsáveis pela inspeção e nem provocou o interesse de outros pesquisadores nacionais, a julgar pela ausência de trabalhos sobre o tema, na literatura especializada.

Reconhecida a importância da relação u/p na avaliação bromatológica dos produtos cár-

neos, resolvemos estender as observações, feitas com salsichas frescas, àquelas que são acondicionadas em latas. Duas razões justificavam a presente pesquisa: a primeira, de ordem tecnológica, porque a imersão do produto em água ou salmoura de algum modo deveria influenciar a relação u/p e, a segunda, porque as salsichas enlatadas, produzidas em quantidades incomparavelmente maiores que as do produto fresco, devido às suas características de conservação, têm participação muito mais significativa no abastecimento.

Com o objetivo de conhecer a relação u/p das principais marcas de salsichas enlatadas encontradas nos mercados, pareceu-nos também oportuno acompanhar a evolução desse índice ao longo do tempo de enlatamento, em pesquisa realizada na disciplina de Inspeção Sanitária dos Alimentos de Origem Animal,

* Realizado na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, SP.

** Da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP.

*** Do Instituto Básico de Biologia Médica e Agrícola da UNESP, Botucatu, SP.

da F.M.V.Z., da UNESP, Campus de Botucatu, SP.

MATERIAL E MÉTODOS

Iniciamos nossa pesquisa em 1978 com 40 latas de salsichas do tipo Vienna, Frankfurter e Petisco das principais marcas produzidas em fábricas localizadas no Estado de São Paulo e adquiridas nos mercados da Capital ou de Botucatu, SP. Vale a pena notar que a diferença de designação comercial das salsichas não corresponde, em absoluto, a variação tecnológica da massa, porque esta última é sempre de emulsão. A variedade de nomenclatura encontra justificativa apenas no comprimento dos gomos, no diâmetro e tipo dos envoltórios ou na capacidade das latas e, quando muito, para atender ao apelo do mercado consumidor.

Para estudar o comportamento da relação u/p, em função do tempo de enlatamento, fomos obrigados a obter o material de pesquisa diretamente de fábricas de conserva, enquanto se realizava a industrialização. Isto porque o parágrafo 2.º do artigo 376 do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal⁴ determina que, no caso de salsichas enlatadas, o produto final, antes do enlatamento, deve apresentar relação de 3,5 (três e meio) de água para 1 (um) de proteína (fator 6,25).

Para poder atender ao dispositivo regulamentar, alguns gomos de salsichas não enlatadas e 13 latas contendo produto da mesma partida foram retirados da linha de produção industrial. Amostragem desse tipo foi realizada cinco vezes e em épocas diferentes em cada uma de duas fábricas, perfazendo total de 10 amostras de salsichas não enlatadas e 130 latas que foram sendo abertas, para análise das salsichas, em diferentes intervalos de tempo.

As amostras de salsichas não enlatadas eram acondicionadas em envelopes plásticos, selados a vácuo, para facilitar o transporte até o laboratório, onde eram analisadas imediatamente ou conservadas em geladeira para posterior análise.

Desejando-se, em algumas amostras, conhecer o peso drenado, o conteúdo das latas, depois de abertas, era despejado sobre peneira e as salsichas, escorridas, eram pesadas em balança Mettler P. 1200.

Para a análise química, as salsichas, dos envelopes ou das latas, eram enxugadas com papel de filtro e passadas, por três vezes, por moinho de placas, com furos de 4 mm de diâmetro, para melhor homogeneização.

A determinação de umidade foi feita com base na perda de massa sofrida pelo material, após aquecimento a 125°C, por 3 horas, segundo recomendação da AOAC⁵.

O teor total de proteína foi determinado pelo nitrogênio, após digestão do material

com ácido sulfúrico e destilação da amônia formada, para excesso conhecido de ácido sulfúrico (Kjeldahl), conforme técnica referida pela "Society for Analytical Chemistry"¹¹, e que também é adotada pelo Instituto Adolfo Lutz¹².

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de nossa pesquisa estão reunidos nas tabelas 1, 2 e 3.

A tabela 1 mostra ampla variação da relação u/p das 40 amostras examinadas, com valores extremos de 5,60 : 1 e 13,03 : 1. Excluída a marca F, com apenas uma amostra, nota-se que a dispersão de valores é mais acentuada entre amostras das diferentes fábricas do que entre aquelas de uma mesma fábrica.

Convém assinalar que a oscilação de valores da relação u/p não pode ser atribuída ao tempo de enlatamento que, como está registrado, vai de um mínimo de 15 a um máximo de 544 dias. De fato, o exame dos dados da tabela 1 mostra que o coeficiente de correlação entre a relação u/p e o tempo decorrido desde a fabricação até a análise química das salsichas, sendo de $r = 0,0322$, é estatisticamente não significativo.

A ausência de correlação pode ser justificada pela heterogeneidade das amostras porque, sendo de marcas diferentes, este fato indica não apenas técnicas e artifícios diversos de fabricação e de processamento mas, principalmente, variedade de ingredientes utilizados.

Na elaboração de salsinhas, além da carne, certos tecidos e órgãos, cujo teor de umidade varia com diversos fatores^{1, 2, 6, 12}, também entram ingredientes (vegetais e minerais), legalmente permitidos, que visam, entre outros objetivos, aumentar a quantidade de água do produto. Por outro lado, tratando-se de produtos de emulsão, a adição de uma certa quantidade de água ou gelo à massa das salsichas se faz tecnicamente necessária para conseguir a desejável estabilidade do gel formado com a proteína e, desse fato, resultar maior retenção de gordura, melhor palatabilidade, succulência e tenrura do produto final⁶. Todos estes fatores, e sobretudo a adição exagerada de água ou gelo, são os responsáveis diretos pelas notáveis diferenças observadas na relação u/p das amostras constantes da tabela 1, com inegável comprometimento do valor nutritivo do produto. Diga-se de passagem que a adoção da relação u/p pela legislação bromatológica de muitos países se deveu exatamente à necessidade de preservar a autenticidade dos produtos cárneos, principalmente os de emulsão^{5, 7, 8, 10}.

Em 1959, HEIDTMANN¹³ verificou que o aumento ou diminuição do peso das salsichas enlatadas, especialmente durante a defumação e conservação em salmoura, dentro da lata, era grandemente influenciado tanto pela matéria-prima como pelas técnicas de processamento. Em nosso caso, não podendo seguir a influência da defumação sobre o peso das

TABELA 1

Relação umidade/proteína de salsichas enlatadas de seis fábricas do Estado de São Paulo

| Marcas de fábricas (Código) | Umidade | Proteína | Relação | Diferença entre tempo de fabricação e de análise (dias) |
|-----------------------------|---------|----------|-----------|---|
| | % | % | u/p | |
| A | 72,37 | 9,78 | 7,39 : 1 | 289 |
| A | 72,50 | 10,41 | 6,96 : 1 | 292 |
| A | 70,00 | 11,04 | 6,34 : 1 | 287 |
| A | 70,25 | 10,18 | 6,90 : 1 | 395 |
| A | 71,50 | 10,19 | 7,01 : 1 | 288 |
| A | 75,15 | 9,98 | 7,53 : 1 | 57 |
| A | 72,84 | 10,12 | 7,19 : 1 | 63 |
| A | 69,95 | 10,48 | 6,67 : 1 | 79 |
| A | 71,87 | 10,26 | 7,00 : 1 | 69 |
| A | 72,37 | 10,39 | 6,96 : 1 | 187 |
| A | 74,93 | 8,85 | 8,46 : 1 | 221 |
| A | 72,39 | 9,08 | 7,97 : 1 | 171 |
| A | 73,00 | 9,08 | 8,03 : 1 | 187 |
| A | 74,92 | 10,08 | 7,43 : 1 | 61 |
| A | 74,11 | 10,90 | 6,79 : 1 | 45 |
| B | 74,64 | 9,52 | 7,84 : 1 | 248 |
| B | 74,87 | 9,97 | 7,51 : 1 | 244 |
| B | 74,25 | 9,97 | 7,44 : 1 | 240 |
| B | 79,73 | 8,69 | 9,17 : 1 | 442 |
| B | 75,55 | 8,65 | 8,73 : 1 | 123 |
| B | 74,70 | 10,32 | 7,23 : 1 | 129 |
| B | 75,69 | 10,00 | 7,56 : 1 | 43 |
| B | 75,39 | 9,53 | 7,91 : 1 | 132 |
| B | 74,93 | 10,18 | 7,36 : 1 | 15 |
| B | 74,90 | 11,25 | 8,18 : 1 | 37 |
| B | 74,25 | 9,62 | 7,71 : 1 | 48 |
| C | 70,69 | 8,64 | 8,18 : 1 | 544 |
| C | 71,70 | 9,15 | 6,37 : 1 | 539 |
| C | 73,21 | 9,26 | 7,90 : 1 | 89 |
| C | 75,80 | 11,62 | 6,52 : 1 | 119 |
| C | 75,24 | 11,42 | 6,58 : 1 | 119 |
| D | 71,49 | 5,77 | 12,38 : 1 | 250 |
| D | 70,88 | 7,38 | 9,60 : 1 | 208 |
| D | 73,76 | 5,66 | 13,03 : 1 | 120 |
| D | 69,43 | 7,46 | 9,30 : 1 | 231 |
| D | 70,90 | 6,81 | 10,41 : 1 | 146 |
| E | 71,75 | 11,67 | 6,15 : 1 | 316 |
| E | 69,03 | 12,32 | 5,60 : 1 | 82 |
| E | 70,50 | 12,19 | 5,78 : 1 | 85 |
| F | 71,62 | 9,45 | 7,57 : 1 | 365 |

Nota: As análises foram feitas em duplicata e os valores representam médias.

salsichas, procuramos confrontar o peso declarado no rótulo da lata com aquele das salsichas drenadas, cujos resultados constam da tabela 2. Verifica-se, assim, que o peso das salsichas drenadas, em 73% dos casos aumentou, em 18% se manteve em limites próximos e, em 9% diminuiu, em relação ao peso declarado.

Esses valores diferem muito daqueles referidos por HARMS¹⁰, para quem mais de 80% das amostras drenadas de sua pesquisa apresentavam peso inferior ao declarado no rótulo.

As trocas osmóticas, entre salsichas e líquido (água ou salmoura) contido na lata, são responsáveis pela alteração de peso da salsicha e, conseqüentemente, da relação u/p. É

evidente que não só água e sais participam das correntes osmóticas, mas também as próprias proteínas solúveis das carnes da salsicha passam para o líquido do recipiente.

Os dados da tabela 3 mostram o comportamento da relação u/p, partindo de salsichas não enlatadas e, depois do processamento, até trinta dias, em duas fábricas das mais con-

TABELA 2

Variação entre pesos declarado e drenado de salsichas, em função do tempo de processamento

| Peso declarado no rótulo (g) | Peso drenado (g) | Tempo de processamento (dias) |
|------------------------------|------------------|-------------------------------|
| 180 | 181 | 10 |
| 180 | 182 | 10 |
| 180 | 199 | 248 |
| 170 | 218 | 244 |
| 185 | 189 | 395 |
| 185 | 200 | 288 |
| 180 | 169 | 287 |
| 250 | 239 | 240 |
| 250 | 287 | 292 |
| 180 | 189 | 289 |
| 180 | 202 | 316 |
| 180 | 202 | 130 |
| 180 | 205 | 279 |
| 180 | 202 | 69 |
| 180 | 194 | 115 |
| 180 | 186 | 123 |
| 180 | 196 | 102 |
| 180 | 190 | 281 |
| 180 | 194 | 109 |
| 180 | 192 | 131 |
| 180 | 203 | 130 |
| 180 | 201 | 99 |

TABELA 3

Médias da relação umidade/proteína de dez partidas de salsichas em função do tempo de processamento

| Condição das salsichas | Tempo de abertura da lata | Umidade % | Proteína % | Relação umidade/proteína |
|-------------------------------|---------------------------|-----------|------------|--------------------------|
| Não enlatadas | — | 66,80 | 12,93 | 5,17 : 1 |
| Enlatadas mas não processadas | 5 min | 68,61 | 12,50 | 5,45 : 1 |
| | 10 min | 68,81 | 12,58 | 5,47 : 1 |
| | 20 min | 68,82 | 12,27 | 5,61 : 1 |
| Enlatadas e processadas | 5 min | 70,94 | 12,18 | 5,82 : 1 |
| | 10 min | 71,23 | 11,76 | 6,06 : 1 |
| | 20 min | 72,30 | 12,07 | 5,99 : 1 |
| | 2 h | 71,36 | 11,45 | 6,23 : 1 |
| | 4 h | 71,24 | 10,87 | 6,55 : 1 |
| | 1 dia | 72,68 | 11,93 | 6,59 : 1 |
| | 2 dias | 73,05 | 11,36 | 6,43 : 1 |
| | 8 dias | 76,95 | 10,96 | 6,94 : 1 |
| | 18 dias | 74,80 | 10,64 | 7,03 : 1 |
| | 30 dias | 75,34 | 10,43 | 7,22 : 1 |

Nota: As análises foram feitas em duplicata.

ceituadas do país. A despeito da boa qualidade tecnológica e físico-organoléptica dos produtos das dez partidas usadas na pesquisa, verifica-se que a média da relação u/p está inteiramente em desacordo com a exigência regulamentar de nosso País. Este fato vem comprovar a crítica anteriormente feita por TAKINO¹⁵ et alii de que há necessidade de rever o Regulamento brasileiro fixando-se valor mais prático e real para a relação u/p dos produtos de salsicharia.

O exame dos dados da tabela 3 indica que a relação u/p de salsichas enlatadas só é sensivelmente modificada depois que as latas recebem o impacto do calor, no processamento, quando, com mais intensidade, se ativa o fenômeno de osmose. De fato, basta atentar que praticamente não houve alterações de valores quando as latas, ainda não processadas, foram abertas depois de cinco, dez e vinte minutos do enchimento. Esta observação está em desacordo com a afirmativa de GRAU⁸ para quem a água dos embutidos enlatados também aumenta ao serem introduzidos nos recipientes. O mesmo não acontece nos oito primeiros dias após o processamento, havendo tendência de estabilização após esse período.

Os dados da tabela 3 apresentam um coeficiente de correlação, $r = 0,7171$, estatisticamente significativo, ao nível $\alpha = 0,01$, entre a relação u/p e o tempo de abertura da lata.

Do ponto de vista legal, chama a atenção, na tabela 3, o fato que a média da relação u/p das dez partidas de salsichas ainda não enlatadas contrariou flagrantemente o dispositivo regulamentar de 3,5:1. Confrontando as médias da relação u/p das salsichas enlatadas e processadas, constantes da tabela 3, com aquelas da tabela 1, percebe-se que, na maioria (75%), os valores são muito próximos, autorizando a supor que, quando as salsichas das latas adquiridas nos mercados ainda não tinham sido enlatadas e processadas, também não obedeciam à relação u/p legal. Esta hipó-

tese, para ser experimentalmente comprovada, exigiria acesso às fábricas de conserva para que a exigência regulamentar pudesse ser observada. Por outro lado, todas as observações desta pesquisa indicam a necessidade de revisão do dispositivo regulamentar, com vistas a fixar valor tecnologicamente mais correto para a relação u/p de salsichas enlatadas e que seja mais consentâneo com as condições da rotina industrial.

CONCLUSÕES

1. Os valores da relação umidade/proteína de 40 amostras de salsichas enlatadas, de seis fábricas do Estado de São Paulo, colocaram-se entre 5,60:1 e 13,03:1.

2. Dispersão tão ampla, motivada pela diversidade e tipo dos ingredientes, faz oscilar o valor nutritivo do produto cujo teor protéico foi de um mínimo de 5,66% a um máximo de 12,32%.

3. O peso drenado das salsichas foi maior em 73% das amostras, muito próximo em 18% e menor em 9% do que o peso declarado no rótulo.

4. As correntes osmóticas entre a salsicha e o líquido (água ou salmoura) do recipiente se estabeleceram com intensidade maior nas primeiras horas, após o enlatamento e processamento, alcançando relativo equilíbrio após oito dias de pronta a conserva.

5. Confirma-se a necessidade de rever a relação umidade/proteína do Regulamento nacional, fixando-lhe outro valor que seja tecnologicamente mais consentâneo e mais realisticamente adaptado às condições de rotina industrial.

Agradecimentos

Ao técnico Sr. Norival Basso pelo auxílio prestado no trabalho de fábrica e na execução das provas analíticas.

RIALA6/509

MUCCILOLO, P.; MEIRA, D.R. & GOMES, M.C.G. — Moisture/protein ratio of canned sausages and its behavior in function of the time of processing. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):129-134, 1980.

ABSTRACT: In samples of canned sausages produced in São Paulo State, the moisture/protein ratio showed a wide variation whose limits were between 5,60:1 and 13,03:1, so indicating a serious decrease of the product nutritive value. The effect of the osmotic flow between sausage and container liquid in 130 cans, revealed to be more intense at the starting of the processing time until the eighth day, when there is a tendency to stabilize the phenomenon. This investigation demonstrates that the u/p ratio of 3,50:1 has not been followed as required by the Brazilian Regulation governing the Meat Inspection. These findings indicate that the present Brazilian u/p ratio must be revised and a new one, more technologically correct be enforced in order to better be applied to our industrial routine conditions.

DESCRIPTORS: sausage (canned), analysis; sausage (canned), moisture/protein ratio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN MEAT INSTITUTE FOUNDATION, Chicago — *Sausage and ready-to-serve meats*. 2nd. ed. Chicago, A.M.I.F., 1953.
2. AMERICAN MEAT INSTITUTE FOUNDATION, Chicago — *The science of meat and meat products*. San Francisco, Freeman, c1960. p. 351-5.
3. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS — *Official methods of the Association of Official Analytical Chemists*. 12nd ed. Washington, A.O.A.C., 1975. 1094p.
4. BRASIL. Ministério da Agricultura — *Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (Aprovado pelo Decreto n.º 30.691, de 29-3-52, alterado pelo Decreto n.º 1.255, de 25-6-62)*. Brasília, [1977]. p. 7-170.
5. ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture — *Laboratory guidebook: policy and procedures of the laboratory branch*. Washington, Technical Services Division, 1972. p. 17-8.
6. FORREST, J.C.; ABERLE, E.D.; HEDRICK, H.B.; JUDGE, M.D. & MERKEL, R.A. — *Principles of meat science*. San Francisco, Freeman, 1975. p. 211-2.
7. FRANÇA. Ministère de l'Agriculture — *Code de la charcuterie, de la salaison et des conserves des viandes*. Paris, 1978. p. 36-40.
8. GRAU, R. — *Carne y productos cárnicos*. Traducido del alemán por Bernabe Sanz Perez y Jaime Esain Escobar. Zaragoza, Acribia, 1965. p. 213.
9. HANSON, L.G. — The composition of meat: legal problems. In: COLE, D.J.A. & LAWRIE, R.A., ed. — *Meat. Proceedings of the twenty-first Easter school in agricultural science*. London, Butterworth, 1975. p. 303-17. [Conference proceedings]
10. HARMS, F. — Weight loss from sausage packaged in cans and jars. *Arch. Lebensmittelhyg.*, 26(4):154-5, 1975 apud *Food Sci. Technol. Abstr.*, 8(2):2 S 140, 1976.
11. HEIDTMANN, R. — Einflub des Ausgangsmaterials und Herstellungsverfahrens auf Gewichtsveränderungen von Dosenwürstchen. *Fleischwirtschaft*, 11:992-4, 1959.
12. KRAMLICH, W.E.; PEARSON, A.M. & TAUBER, F.W. — *Processed meats*. Westport, AVI, 1973. p. 108-9.
13. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. v. 1: *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 2a ed. São Paulo, 1976. p. 38-9.
14. SOCIETY FOR ANALYTICAL CHEMISTRY. Analytical Methods Committee — *Official standardizing and recommended methods for analysis*. London, Soc. Analyt. Chem., 1973. 897 p.
15. TAKINO, M.; KOMATSU, I. & GALLI, F. — Relação umidade/proteína de salsichas e mortadelas consumidas em São Paulo. *Atual. vet.*, S. Paulo, 3(19):4-10, 1974.
16. TERRAL, A. & STEVENS, P. — Teneur en eau des produits animaux et les retenctions d'eau. *Bull. tech. Inf. Ingrs Serv. agric.*, 322:437-41, 1977.

Recebido para publicação em 5 de julho de 1980.

DETERMINAÇÃO DE β -ASARONA EM BEBIDAS ALCOÓLICAS *

Helena Yuco YABIKU **
Franco Maria LAJOLO ***

RIALA6/510

YABIKU, H.Y. & LAJOLO, F.M. — Determinação de β -asarona em bebidas alcoólicas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):135-145, 1980.

RESUMO: O controle de óleo de cálamo em bebidas alcoólicas foi feito pela determinação quantitativa de β -asarona, seu princípio ativo, através de 2 métodos: fluorimétrico e por cromatografia em fase gasosa e sua presença ou identidade, confirmada com auxílio de espectrometria de massa. Entre 56 amostras de bebidas alcoólicas analisadas de 18 marcas diferentes, os teores de β -asarona variaram desde 0 a 4,96 ppm e apenas uma marca mostrou estar acima do permitido que é 1 ppm estabelecido pelo Conselho da Europa. O método de cromatografia em fase gasosa mostrou-se preferível ao método fluorimétrico e foi sugerido para ser adotado como método oficial na determinação de β -asarona em bebidas alcoólicas.

DESCRITORES: β -asarona em bebidas alcoólicas, determinação; aromatizante (óleo de cálamo) em bebidas alcoólicas; cálamo, óleo, em bebidas alcoólicas; bebidas alcoólicas, aromatizante; óleo de cálamo em bebidas alcoólicas.

INTRODUÇÃO

Acorus calamus Linn. (família *Araceae*) originária da Ásia Oriental é uma planta encontrada nas áreas pantanosas das zonas temperadas da Europa, Ásia e norte da América, ao longo dos rios e lagos¹.

Segundo CAVAZZA², ela é classificada em 4 cariotipos ou citotipos: variedade norte-americana (diplóide), variedade européia (triplóide), variedade indiana Jammu (tetraplóide) e variedade Kashmir (hexaplóide).

Dentro do gênero *Acorus calamus* se distinguem de três a quatro quimiotipos, fato que condiciona o aparecimento de diferenças analíticas entre suas variedades. Essas diferenças residem na composição ou, mais especificamente, no teor do componente éter-fenólico, o 2,4,5-trimetoxi-1-propenilbenzeno, chamado β -asarona, presente no óleo essencial extraído dos rizomas^{3,8}. Assim, a concentração da

β -asarona no óleo oscila desde traços na variedade americana ou diplóide, até cerca de 80% na variedade indiana Jammu ou tetraplóide³.

Desde a antiguidade, as raízes e os rizomas do cálamo, variedade indiana, têm sido usados para o tratamento de várias doenças^{4,5,9}. Seu uso com fins terapêuticos no tratamento de doenças de ossos e neuromusculares, tais como raquitismo e poliomielite, foi comunicado por BIRGGAL¹.

Mais recentemente, devido às suas propriedades organolépticas, o cálamo, sob a forma de extrato hidroalcoólico, é bastante usado como substância aromatizante na formulação de bebidas alcoólicas do tipo amargo que juntamente com outros componentes formam o "bouquet" do produto.

Numerosos estudos farmacológicos têm sido realizados com o óleo volátil de origem indiana^{4,7,9}.

* Realizado na Seção de Aditivos do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.
Parcialmente financiado pela Financiadora de Estudos e Projetos, Rio de Janeiro, RJ.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

DANDIYA *et alii*⁷ observaram que a potenciação de efeitos hipnóticos de certos fármacos tais como barbitúricos e etanol era obtida utilizando-se o óleo volátil proveniente da destilação a vapor dos rizomas do cálamo.

Propriedades bactericidas, antiveratrínicas, antiespasmódicas, carminativas e antiarrítmicas têm sido também atribuídas ao óleo essencial^{5, 8, 16, 17}.

As ações farmacológicas associadas à toxicidade do óleo de cálamo foram estudadas por vários autores^{11, 12, 13, 19}.

Estudos toxicológicos têm mostrado que tumores intestinais malignos ocorreram em ratos alimentados com dietas contendo até 5.000 ppm de óleo de cálamo.

Nos Estados Unidos, diante da constatação de efeitos tóxicos, o uso de cálamo em alimentos foi banido sob qualquer de suas formas: raízes, rizomas, extrato hidroalcoólico e óleos⁸. No Brasil² e em muitos países da Europa⁶, entretanto, o seu uso ainda é permitido em concentração máxima de 1,0 ppm. Diversas técnicas analíticas têm sido propostas na tentativa de identificar e determinar quantitativamente a β -asarona, principal componente do óleo, em bebidas alcoólicas^{16, 18, 20}.

O objetivo do nosso trabalho foi verificar o nível de β -asarona em bebidas alcoólicas normalmente consumidas no Brasil, além de padronizar e propor a oficialização de um método para sua dosagem. A presença deste componente em bebidas foi confirmada pela cromatografia em fase gasosa associada à espectrometria de massa.

MATERIAL

Utilizaram-se 56 amostras de bebidas alcoólicas recebidas para análise de controle no Instituto Adolfo Lutz. Foram analisadas bebidas do tipo amargo tais como vermute seco ou doce, tinto ou branco, "bitter", "fernet", correspondendo a 18 marcas comerciais diferentes colhidas de diversas regiões do Estado de São Paulo.

MÉTODO

Preparo das amostras de bebidas alcoólicas

O preparo das amostras para determinação da β -asarona seguiu o procedimento descrito por DYER *et alii*¹⁰, com algumas modificações incluindo etapas de extração do componente tóxico das bebidas alcoólicas, purificação e posterior análise.

Extração da β -asarona: 100 ml da amostra foram transferidos para um balão de destila-

ção com ajuda de 50 ml de água. Juntaram-se alguns cacos de porcelana para evitar superaquecimento e procedeu-se à destilação simples. Coletaram-se aproximadamente 100 ml de destilado, que foram transferidos para um funil de separação de 250 ml, aos quais se adicionaram 100 ml de solução saturada de NaCl e aproximadamente 10 ml de hexana. A mistura foi então agitada vigorosamente por 10 minutos e depois foi decantada.

Purificação: a solução aquosa foi descartada e a porção hexânica foi lavada primeiramente com 20 ml de NaOH 1N, depois com 20 ml de HCl 1N, e finalmente com água²⁰.

O tubo interno do funil de separação foi limpo com papel de filtro para retirar toda água e o extrato hexânico foi coletado e completado até 10 ml em balão volumétrico.

Determinação quantitativa

A determinação quantitativa de β -asarona foi realizada por 2 métodos: fluorimétrico e por cromatografia em fase gasosa.

a) Método fluorimétrico

O extrato hexânico purificado foi transferido diretamente para uma célula fluorimétrica e sua fluorescência medida, usando como branco, a hexana. O aparelho utilizado foi o espectrofotômetro de fluorescência* e as condições experimentais foram: comprimento de onda de excitação = 310 nm, comprimento de onda de emissão = 356 nm, largura da fenda para excitação e emissão = 10 nm, sensibilidade = 0,3, ganho = 1.

Uma curva-padrão foi preparada, registrando as intensidades das soluções-padrão de β -asarona, com concentrações variando de 0 a 2 μ g/ml.

O fluorímetro foi calibrado para 70% de intensidade de fluorescência relativa com padrão de β -asarona de 2 μ g/ml. Foi feito teste para verificar o decréscimo da fluorescência das soluções-padrão de β -asarona durante 3 meses.

Foi realizado teste de recuperação com soluções-padrão de β -asarona de concentrações de 0,2 — 0,3 — 0,5 — 1,0 — 1,5 e 2,0 μ g/ml contidas em 100 ml de etanol a 20%. O processo de extração e purificação foi realizado conforme o descrito em *Preparo das amostras de bebidas alcoólicas* (coluna 1 desta página) e as fluorescências foram registradas.

b) Método de cromatografia em fase gasosa

O aparelho utilizado foi o cromatógrafo** com detector de ionização de chama e coluna de aço inoxidável, de 5 pés por 1/8 pol., empacotada com 14,7% de FFAP (Carbowax 20 M

* Perkin-Elmer, mod. 204A e 204S.

** Varian, mod. 1400.

modificado) em Chromosorb W, 80—100 "mesh".

As condições de operação foram: temperatura do detector, injetor e coluna = 230, 230 e 200 °C, respectivamente, gás de arraste = nitrogênio, fluxo do gás = 70 ml/min, sensibilidade = 4×10^{-11} .

Soluções-estoque: estearato de metila de concentração 1 mg/ml em hexana e β -asarona 1 mg/ml em etanol.

Na realização da curva-padrão foram preparados padrões contendo 1, 2, 3, 4 e 5 mg/l de β -asarona pela colocação de 100, 200, 300, 400 e 500 μ l da solução-estoque de β -asarona em balões volumétricos de 100 ml, contendo 90 ml de etanol a 20%. Dessa maneira, procedeu-se como no preparo das amostras.

A cada extrato hexânico obtido foram adicionados 200 μ l da solução de estearato de metila, como padrão interno.

Foram injetados diretamente no cromatógrafo 5 μ l da solução e construiu-se um gráfico colocando nas ordenadas a relação entre as alturas do componente e do padrão interno e, nas abscissas, a concentração de β -asarona.

Comprovação qualitativa

Para confirmar a presença de β -asarona em bebidas alcoólicas foi utilizado o espectrofotômetro de massa acoplado a cromatógrafo

gasoso*. As condições de operação foram: coluna = SP — 2.100, energia dos elétrons = 70 e V, corrente = 30 μ A, tensão do M.E. = 2.000 V, temperatura do injetor, forno e coluna, respectivamente 240, 280, 150-220 °C, razão = 10 °C/min.

Os espectros de massa do padrão de β -asarona e os das amostras de bebidas foram comparados qualitativamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram registradas as intensidades de fluorescência relativa de soluções-padrão de β -asarona de concentrações variando de 0 a 2 μ g/ml (tabela 1).

A curva-padrão demonstrou que a intensidade da fluorescência é linearmente dependente da concentração nessa faixa de trabalho.

Verificou-se a estabilidade da solução de β -asarona em hexana, com leituras efetuadas de tempo em tempo, durante 3 meses.

As porcentagens de recuperação estão demonstradas na tabela 2 e ilustradas na figura 1. A média das recuperações foi de $91,60 \pm 1,32$ onde as determinações foram efetuadas em duplicata. Deve-se salientar que a fase de extração com hexana é crítica para se obter recuperação elevada, pois a agitação deve ser contínua e vigorosa por 10 minutos.

TABELA 1

Soluções-padrão de β -asarona com suas respectivas intensidades relativas de fluorescência

| β -asarona (μ g/ml) | Intensidade (%) |
|--------------------------------|-----------------|
| 2,0 | 70 |
| 1,5 | 53 |
| 1,0 | 36 |
| 0,5 | 18 |
| 0,3 | 10 |
| 0,2 | 7 |

TABELA 2

Porcentagem de recuperação das soluções-padrão de β -asarona pelo método fluorimétrico

| β -asarona (μ g/ml) | Recuperação (%) |
|----------------------------------|------------------|
| 2,0 | 90,72 |
| 1,5 | 90,57 |
| 1,0 | 92,36 |
| 0,5 | 93,06 |
| 0,3 | 90,00 |
| 0,2 | 92,86 |
| Média \pm Desvio padrão (D.P.) | 91,60 \pm 1,32 |

* Hewlett-Packard mod. 5992A.

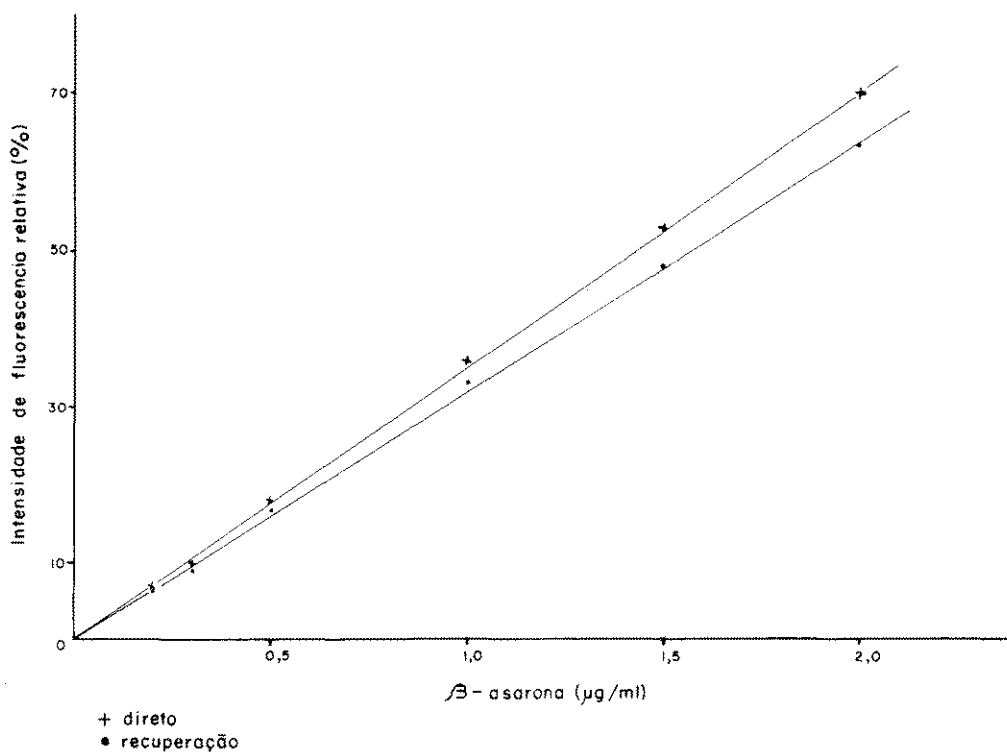


FIGURA 1 — Curvas-padrão das soluções-padrão de β -asarona (0 a 2 $\mu\text{g/ml}$) com e sem recuperação, pelo método fluorimétrico.

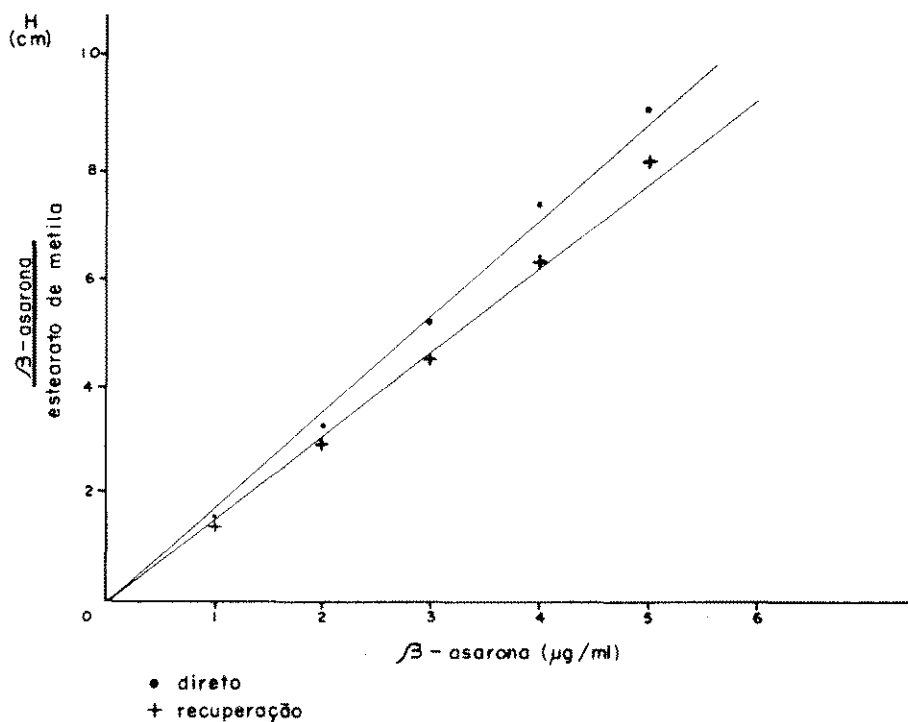


FIGURA 2 — Curvas-padrão das soluções-padrão de β -asarona levando em conta o estearato de metila como padrão interno. Cromatógrafo gasoso.

Os valores por nós encontrados estão muito próximos aos encontrados por WOJCIOWICZ²⁰.

A sensibilidade do método foi diminuída em relação à do trabalho de Wojtowicz, uma vez que este autor calibrou o aparelho para dar 70% de intensidade de fluorescência relativa com padrão 1 ppm de β -asarona, enquanto que no presente trabalho a calibração foi feita com 2 ppm de β -asarona. Independentemente deste fato, a sensibilidade do método é bastante satisfatória, sendo de 0,1 ppm.

No método de cromatografia em fase gasosa, foram elaboradas duas curvas-padrão: uma, levando em conta o estearato de metila como padrão interno e a outra, sem a adição do mesmo. A escolha do estearato de metila como padrão interno, em lugar de palmitato de etila como é recomendado por DYER²⁰, ocorreu devido à facilidade de sua aquisição.

As alturas dos picos foram medidas e relacionadas às concentrações da β -asarona (fig. 2 e 3).

Uma vez que a porcentagem média (87,97%) de recuperação foi a mesma para ambos os métodos, isto é, uma considerando o padrão interno e a outra, sem a sua adição (tabela 3), foi utilizada diretamente a altura do pico na dosagem de β -asarona em bebidas alcoólicas. Dessa maneira construiu-se uma nova curva-padrão pelo método direto, isto é, sem adição de padrão interno e já levando em conta a recuperação (fig. 4). A média foi de 88,75% e as determinações foram feitas em duplicata (tab. 4). Essa recuperação é considerada satisfatória, tendo em vista a baixa concentração da β -asarona presente no produto, além de serem as etapas de destilação e extração requeridas antes da determinação cromatográfica. A sensibilidade do método foi de 0,25 ppm.

TABELA 3

Porcentagem de recuperação das soluções-padrão de β -asarona considerando ou não a adição de padrão interno por cromatografia em fase gasosa

| β -Asarona ($\mu\text{g/ml}$) | Recuperação (%) | |
|--|--------------------|--------------------|
| | Sem padrão interno | Com padrão interno |
| 1 | 90,91 | 91,08 |
| 2 | 89,13 | 89,06 |
| 3 | 85,71 | 85,71 |
| 4 | 85,39 | 85,31 |
| 5 | 88,70 | 88,70 |
| Média | 87,97 | 87,97 |

TABELA 4

Porcentagem de recuperação das soluções-padrão de β -asarona sem adição de padrão interno pelo método de cromatografia em fase gasosa

| β -Asarona ($\mu\text{g/ml}$) | Recuperação (%) | |
|--|------------------------------|------------------------------|
| | 1. ^a Determinação | 2. ^a Determinação |
| 1 | 90,91 | 90,91 |
| 2 | 89,13 | 91,30 |
| 3 | 85,71 | 90,48 |
| 4 | 85,39 | 85,39 |
| 5 | 88,70 | 89,57 |
| Média \pm D.P. | 87,97 \pm 2,36 | 89,52 \pm 2,77 |
| Média final \pm D.P. | 88,75 \pm 2,57 | — |

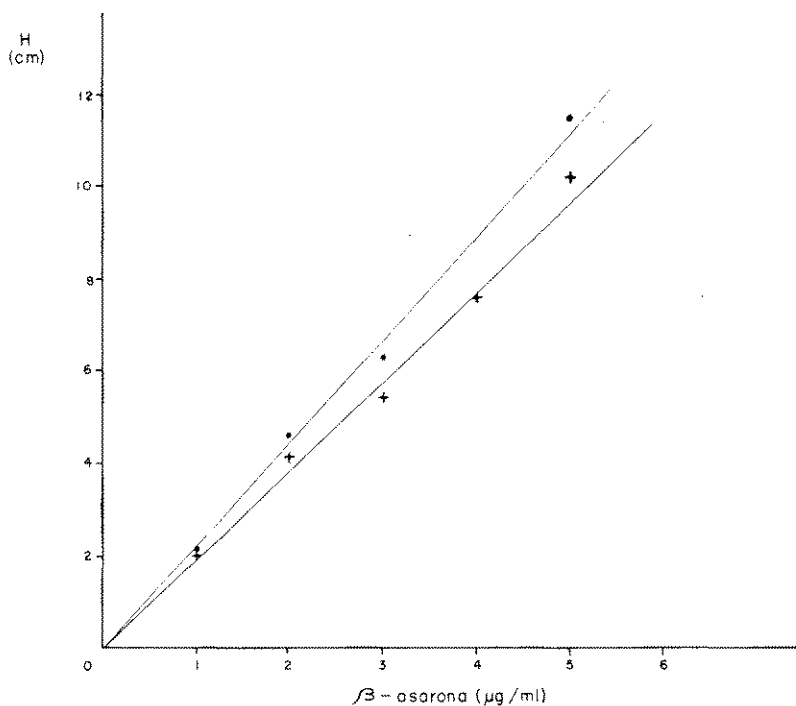


FIGURA 3 — Curvas-padrão das soluções-padrão de β -asarona sem adição de padrão interno. Cromatógrafo gasoso.

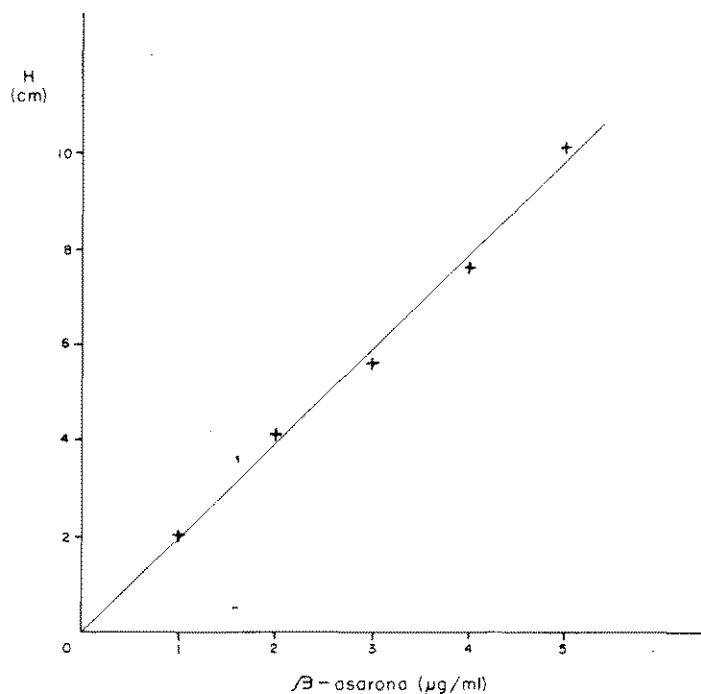


FIGURA 4 — Curva-padrão de soluções-padrão de β -asarona sem adição de padrão interno, levando em conta a recuperação. Cromatógrafo gasoso.

Os teores de β -asarona encontrados nas bebidas alcoólicas analisadas variaram de 0 $\mu\text{g/ml}$ até um máximo de 4,96 $\mu\text{g/ml}$. As amostras de 1 a 49, por apresentarem baixas concentrações de β -asarona, foram dosadas apenas pelo método fluorimétrico, conforme mostra a tabela 5, enquanto que as amostras

de 50 a 56 foram determinadas pelos dois métodos e em duplicata (tabela 6). Estas últimas amostras, todas da mesma marca, apresentaram níveis de β -asarona mais elevados, além de estarem acima do limite permitido pela legislação².

TABELA 5

Teor de β -asarona encontrado em bebidas alcoólicas, método fluorimétrico

| Amostras | β -Asarona encontrado ($\mu\text{g/ml}$) |
|----------|---|
| 1 | 0,08 |
| 2 | 0,21 |
| 3 | 0,26 |
| 4 | 0,03 |
| 5 | 0,11 |
| 6 | 0,06 |
| 7 | 0,09 |
| 8 | 0,13 |
| 9 | 0,05 |
| 10 | 0,06 |
| 11 | 0,16 |
| 12 | 0,12 |
| 13 | 0,12 |
| 14 | 0,03 |
| 15 | 0,03 |
| 16 | 0,05 |
| 17 | 0,01 |
| 18 | 0,03 |
| 19 | 0,01 |
| 20 | 0,04 |
| 21 | 0,06 |
| 22 | 0,08 |
| 23 | 0,01 |
| 24 | 0,11 |
| 25 | 0,01 |
| 26 | 0,03 |
| 27 | 0,03 |
| 28 | 0,02 |
| 29 | 0,01 |
| 30 | 0,01 |
| 31 | 0,00 |
| 32 | 0,01 |
| 33 | 0,01 |
| 34 | 0,00 |
| 35 | 0,00 |
| 36 | 0,02 |
| 37 | 0,01 |
| 38 | 0,00 |
| 39 | 0,00 |
| 40 | 0,02 |
| 41 | 0,09 |
| 42 | 0,01 |
| 43 | 0,01 |
| 44 | 0,01 |
| 45 | 0,02 |
| 46 | 0,01 |
| 47 | 0,00 |
| 48 | 0,00 |
| 49 | 0,95 |

Pela tabela 6 verificamos que, pelo método fluorimétrico, obtêm-se valores superiores aos encontrados pela cromatografia em fase gasosa. Uma das possíveis explicações para o fato é o aumento da intensidade de fluorescência devida a compostos no extrato hexânico que também possuem fluorescência no comprimento de onda estabelecido. Por essa razão, apesar de menos sensível, o método cromatográfico é preferível.

A identidade da β -asarona nas amostras analisadas foi confirmada por espectrometria de massa onde os picos mais importantes do padrão de β -asarona e das amostras apresentaram abundâncias relativas semelhantes.

Os espectros de massa do padrão e de uma das amostras estão ilustrados nas figuras 5 e 6, respectivamente. Os picos mais importantes, em ordem decrescente de abundância relativa do padrão e da amostra, estão representados comparativamente na tabela 7.

Os teores de β -asarona encontrados no presente trabalho, na sua maioria encontram-se dentro do limite estabelecido pela legislação do Council of Europe⁸. Apenas uma marca de bebida alcoólica, dentre as várias analisadas, se acha acima do permitido, que é de 1 ppm (amostras de n.º 50 a 56).

Outros autores tais como MERAT *et alii*¹⁰, analisando 12 amostras de bebidas alcoólicas, encontraram baixos teores de β -asarona desde quantidades não detectáveis até 0,35 ppm.

LIDDLE & SMEDT¹⁶ também não detectaram β -asarona em 12 amostras de vermute analisadas.

Admitindo que um homem com peso de 50 kg consuma 1 litro de bebida alcoólica por dia, considerando que 1 litro contém 1 ml de extrato hidroalcoólico, e admitindo o seu peso específico igual a 1,0, ele estará ingerindo 20 mg de extrato por kg de peso corpóreo por dia.

Segundo FOSTER¹², o extrato hidroalcoólico da variedade européia contém 0,11% de β -asarona. Assim sendo a ingestão de β -asarona seria de 0,022 mg/kg de peso corpóreo por dia.

O limite máximo de β -asarona em bebidas alcoólicas estabelecido pelo Conselho da Europa no valor de 1 ppm, corresponde a 0,02 mg/kg/dia para a ingestão de 1 litro de bebida. Constata-se, pois, que este valor é bastante próximo do estabelecido por FOSTER^{11, 12}.

O maior teor de β -asarona encontrado no presente trabalho foi de 4,96 mg/l (amostra 53, tabela 6) o que representaria um valor cerca de 5 vezes superior ao limite máximo estabelecido. Não podemos porém sugerir uma alteração do valor limite máximo estabelecido para 5 ppm embora FOSTER^{11, 12}, nas experiências com ratos albino Wistar e rações contendo até 7,04 mg/kg peso corpóreo ao dia de β -asarona, não tenha observado nenhum efeito sobre os mesmos, pois esse mesmo autor concluía pela necessidade de maiores estudos face à carência de um maior número de informações.

De fato, parece mais prudente manter-se o nível mínimo tendo em vista efeitos como potenciação com medicamentos, sensibilidade de indivíduos com desvios a nível do sistema nervoso central, além do conhecimento de possível efeito cancerígeno.

TABELA 6

Teor de β -asarona encontrado em bebidas alcoólicas. Método fluorimétrico e por cromatografia em fase gasosa

| Amostras | β -asarona ($\mu\text{g/ml}$) | | Média \pm D.P. |
|----------|---------------------------------------|--|------------------|
| | Método fluorimétrico | Método de cromatografia em fase gasosa | |
| 50 | 3,33 | 3,14 | 3,24 \pm 0,13 |
| 51 | 2,30 | 2,07 | 2,34 \pm 0,37 |
| 52 | 3,40 | 3,22 | 3,31 \pm 0,13 |
| 53 | 5,35 | 4,57 | 4,96 \pm 0,55 |
| 54 | 5,20 | 4,60 | 4,90 \pm 0,42 |
| 55 | 2,05 | 1,81 | 1,93 \pm 0,17 |
| 56 | 4,55 | 4,90 | 4,73 \pm 0,25 |

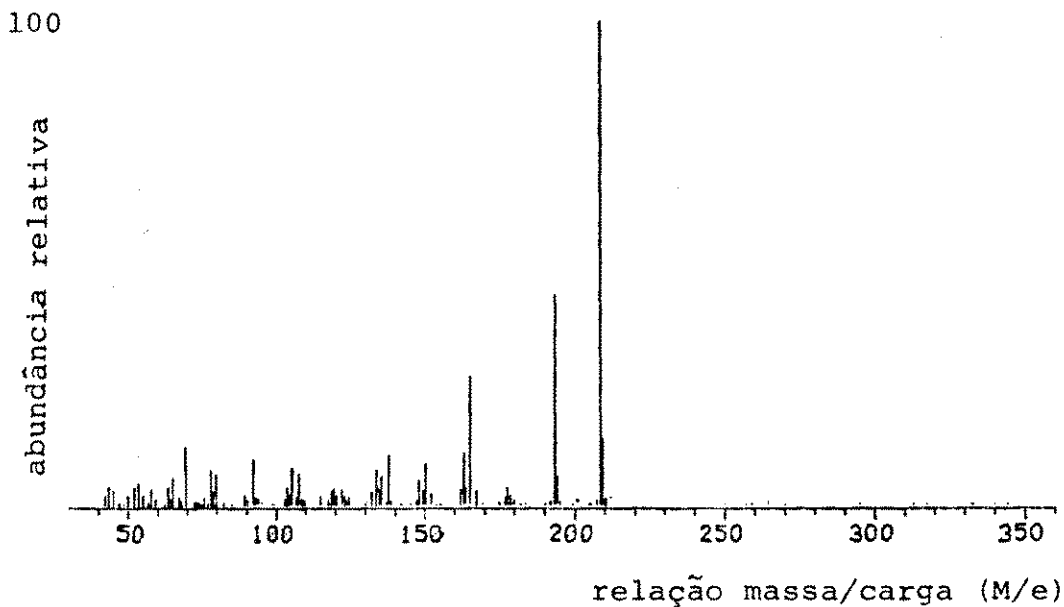


FIGURA 5 — Espectro de massa do padrão de β -asarona. Cromatógrafo gasoso — espectrômetro de massa.

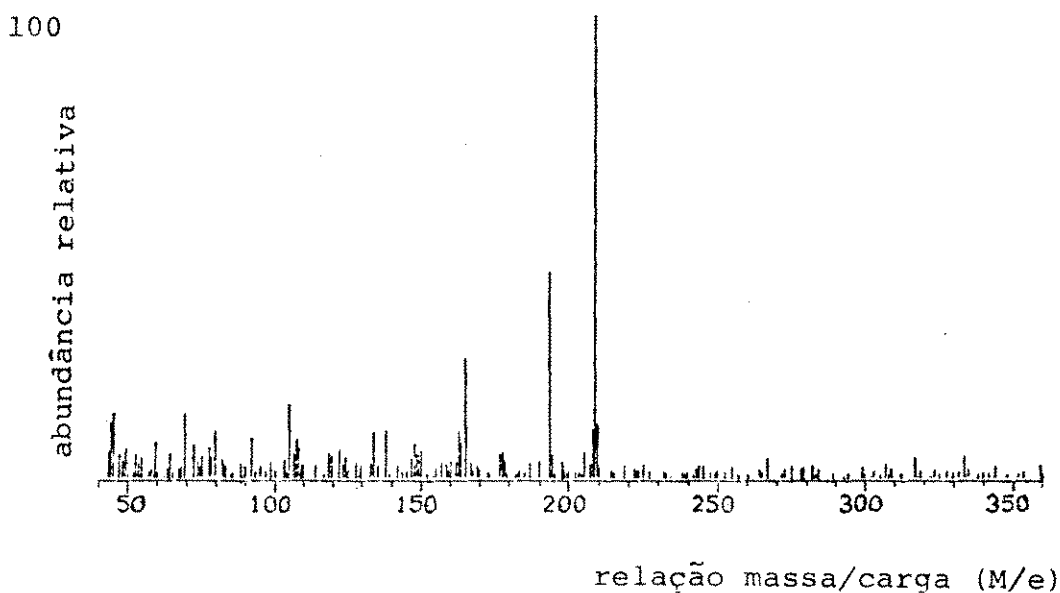


FIGURA 6 — Espectro de massa do extrato hexânico de uma das bebidas alcoólicas analisadas. Cromatógrafo gasoso — espectrômetro de massa.

TABELA 7

Abundância relativa dos picos mais importantes da β -asarona e do extrato hexânico de uma das bebidas alcoólicas analisadas, obtidos por espectrometria de massa

| β -asarona | | Amostra (extrato hexânico de bebida alcoólica) | |
|------------------|------------|--|------------|
| Picos (m/e) | Abundância | Picos (m/e) | Abundância |
| 208 | 100,0 | 208 | 100,0 |
| 193 | 43,7 | 193 | 54,4 |
| 165 | 26,5 | 165 | 29,8 |
| 209 | 14,6 | 149 | 18,3 |
| 69 | 12,1 | 105 | 17,2 |
| 162 | 11,0 | 162 | 15,4 |
| 137 | 10,3 | 209 | 14,6 |
| 91 | 8,9 | 137 | 13,1 |
| 150 | 3,4 | 161 | 10,3 |
| 105 | 8,0 | 177 | 10,2 |

CONCLUSÕES

1. Os teores de β -asarona encontrados em bebidas alcoólicas variaram desde 0 até um máximo de 4,96 $\mu\text{g/ml}$. Algumas amostras encontram-se acima de 1 ppm, limite permitido pela legislação do Council of Europe⁶.

2. Sugerimos que o método de cromatografia em fase gasosa seja adotado como método oficial na determinação de β -asarona em bebidas alcoólicas, uma vez que é mais específico do que o método fluorimétrico e que

ambos mostraram praticamente a mesma sensibilidade.

Agradecimentos

Agradecemos à Dra. Walkyria H. Lara, Chefe da Seção de Aditivos do Instituto Adolfo Lutz, pela possibilidade oferecida na execução dos trabalhos experimentais, ao Dr. Isao Kayano, da Firmenich & Cia. Ltda., pelo fornecimento do padrão de óleo de cálamus, e ao Dr. Jelson Gigonetto, da Hewlett-Packard do Brasil Ind. & Com. Ltda., pelo auxílio prestado na execução do espectro de massa.

RIALAG/510

YABIKU, H.Y. & LAJOLO, F.M. — Determination of β -asarone in alcoholic beverages. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):135-145, 1980.

ABSTRACT: In order to evaluate the presence of calamus oil in alcoholic beverages, a quantitative determination of its active principle β -asarone was performed, by means of two different methods: fluorometric and gas liquid chromatography, and accomplished with atomic mass spectrophotometric analysis. In 56 samples of alcoholic beverages of 18 different brands, only one demonstrated to be in higher content than the permitted limit of 1 ppm, determined by Europe Council. The β -asarone contents varied from 0 to 4.96 ppm. It was suggested to employ the gas liquid chromatography technique as official method for determination of β -asarone in alcoholic beverages, since it is more specific than fluorimetric method.

DESCRIPTORS: β -asarone in alcoholic beverages, determination; flavor (calamus oil) in alcoholic beverages; calamus oil in alcoholic beverages; alcoholic beverages, flavor; oil, calamus, in alcoholic beverages.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BIRGGAL, E. apud OPDYKE, D.L.J. — Monographs on fragrance raw materials. *Food cosmet. Toxicol.*, 15:611-38, 1977.
2. BRASIL. Leis, decretos, etc. — Decreto n.º 55.871 de 26 de março de 1965. *Diário Oficial*, Brasília, 9 abr. 1965. Seção 1, pt. 1, p. 3610. Modifica o Decreto n.º 50.040 de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto n.º 691, de 13 de março de 1962.
3. CAVAZZA, G. — Les chimiotypes parmi les plantes aromatiques cas du calamus polyploide. *Ann. Falsif. Expert. chim.*, 69: 833-44, 1976.
4. CHOPRA, I.C.; JAMWAL, K.S. & KHAJURIA, B.N. — Pharmacological action of some common essential oil-bearing plants used in indigenous medicine. Part I. Pharmacological action of *Acorus calamus*, *Curcuma zedoaria*, *Xanthoxylum alatum* and *Angelica archangelica*. *Indian J. med. Res.*, 42:381-4, 1954.
5. CODE of Federal Regulations. 21. Food and Drugs. Washington, D.C., Govt. print. off., 1977. Parts 100 to 199, p. 649, paragr. 189.110.
6. COUNCIL OF EUROPE — *Natural flavouring substances, their sources, and added artificial flavouring substances*. Strasbourg, 1974. p. 34.
7. DANDIYA, P.C.; BAXTER, R.M. & CULLUMBINE, H. — Studies on *Acorus calamus* (I) — "Phytochemical investigation". *Can. pharm. J.*, 91:63-607 — 63-610, 1958.
8. DANDIYA, P.C.; BAXTER, R.M.; WALKER, G.C. & CULLUMBINE, H. — Studies on *Acorus calamus*, part II: investigation of volatile oil. *J. Pharm. Pharmacol.*, 11: 163-8, 1959.
9. DANDIYA, P.C. & CULLUMBINE, H. — Studies on *Acorus calamus* (III): some pharmacological actions of the volatile oil. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 125:353-9, 1959.
10. DYER, R.H.; MARTIN, G.E. & BUSCEMI, P.C. — Gas-liquid chromatographic determination of β -asarone in wines and flavors. *J. Assoc. off. agric. Chem.*, 59:675-7, 1976.
11. FOSTER D. SNELL, INC. — *A report on 90-day calamus feeding studies with the hydroalcoholic extract of Acorus calamus european variety*. New Jersey, 1969.
12. FOSTER D. SNELL, INC. — *Supplementary report liver lesions project 10002-001*. New Jersey, 1969.
13. GROSS, M.A.; JONES, W.I.; COOK, E.L. & BOONE, C.C. — Carcinogenicity of oil of calamus. *Proc. am. Assoc. Cancer Res.*, 8:24, 1967. [Abstr. 93].
14. GUENTHER, E. — *The essential oils*. New York, Van Nostrand, 1952. v. 6, p. 109-17.
15. LARRY, D. — Gas-liquid chromatographic determination of β -asarone a component of oil of calamus, in flavors and beverages. *J. Assoc. off. agric. Chem.*, 56: 1281-3, 1973.
16. LIDDLE, P.A.P. & SMEDT, P. — Détection et dosage de quatre composés limites par diverses législations dans les boissons alcooliques. *Ann. Falsif. Expert. Chim.*, 69:857-64, 1976.
17. MADAN, B.R.; ARORA, R.B. & KANTI KAPILA, M.B. — Anticonvulsant, antiepileptic and antiarrhythmic actions of *Acorus calamus* Linn. An Indian indigenous drug. *Arch. int. Pharmacodyn. Théor.*, 124:201-11, 1960.
18. MERAT, E.; MARTIN, E.; DURET, M. & VOGEL, J. — Extraction and gas chromatographic determination of β -asarone and α — β — thujone in aperitifs. *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.*, 67(4): 521-6, 1976 apud *Chem. Abstr.*, 86:153870j, 1977.
19. TAYLOR, J.M.; JONES, W.I.; HAGAN, E.C.; GROSS, M.A.; DAVIS, D.A. & COOK, E.L. — Toxicity of oil of calamus (*Jammu variety*). *Toxicol. appl. Pharmacol.*, 10: 405, 1967. [Abstr. 72].
20. WOJTOWICZ, E.J. — Spectrofluorometric determination of β -asarone in sweet and dry vermouths. *J. agric. Food Chem.*, 24: 526-8, 1976.

Recebido para publicação em 5 de julho de 1980.

NÍVEIS DE NITRATOS EM ALIMENTOS INFANTIS *

Walkyria H. LARA **
Mickiko Y. TAKAHASHI **
Helena Y. YABIKU **

RIALA6/511

LARA, W.H.; TAKAHASHI, M.Y. & YABIKU, H.Y. — Níveis de nitratos em alimentos infantis. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):147-152, 1980.

RESUMO: Foram realizadas determinações de nitratos em 85 amostras de alimentos infantis encontrados à venda nos supermercados da cidade de São Paulo, SP, correspondendo aos diferentes tipos: sucos, cremes, frutas, pudins, sopas, etc. Os resultados mostram um alto nível de nitrato em produtos à base de espinafre, atingindo 2.134 mg/kg em nitrato de sódio e na amostra de creme de espinafre. Nos demais produtos sem espinafre, os níveis são baixos, sendo que em 25% das amostras não foi detectado nitrato. Os autores recomendam a retirada de consumo de produtos alimentares infantis à base de espinafre e uma regulamentação adequada para os alimentos infantis por parte dos órgãos competentes.

DESCRITORES: nitrato em alimentos infantis, determinação; alimentos infantis, determinação de nitrato.

INTRODUÇÃO

O uso de nitrato de sódio ou de potássio, associado ou não a nitrito de sódio, na tecnologia de alimentos é bastante antigo e tem sido objeto de regulamentação. Atualmente controlam-se os produtos cárneos curados para que não seja ultrapassado o limite máximo de 200 mg/kg, expressos em nitrito de sódio, no produto a ser consumido¹.

A crescente informação sobre a possibilidade de formação de nitrosaminas em alimentos contendo nitratos e nitritos e a conhecida toxicidade destes últimos tem trazido preocupação quanto ao uso desses conservadores^{8, 10}. Há, entretanto, a considerar a ocorrência natural de nitratos em alimentos frescos e em água potável.

Nitratos estão presentes em todas as plantas e são uma fonte essencial de nitrogênio necessário para o crescimento normal das mesmas. Dados obtidos em vários estudos³ mostram que folhas, caules e flores de vegetais são ricos em nitratos, havendo hortaliças, como o espinafre, que apresentem particularmente altas concentrações. WALKER¹¹ relacionou dados de várias fontes, como se vê na tabela 1:

Em água potável a legislação vigente estabelece um limite de 10 mg/l, calculados em nitrato de sódio. No Brasil, e mais particularmente no Estado de São Paulo, não há registros de águas com teor elevado de nitratos, mas em outros países têm sido encontrados poços com valores altos. Assim, um levantamento de 2.000 poços no Canadá^{6, 9} mostrou que 25,5% dos mesmos tinha valores acima de 80 mg/l de nitrato e, em 18%, os valores estavam acima de 220 mg/l; em outro trabalho, realizado na Inglaterra, alguns valores atingiram 1.800 mg/l.

Este fato de ocorrência natural de nitratos em alimentos frescos e em água leva a considerar que a maior contribuição à ingestão diária de nitratos nem sempre é representada pelos alimentos processados aos quais o nitrato é acrescentado, sobretudo em alimentos infantis.

A baixa acidez do estômago das crianças facilita a transformação de nitrato em nitrito (por bactérias) que, absorvido, age sobre a hemoglobina, causando meta-hemoglobinemia. Isto se deve à oxidação do ferro da hemoglobina ao estado de ferro III, que impede que

* Realizado na Seção de Aditivos do Instituto Adolfo Lutz, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

TABELA 1

Conteúdo de nitrato de folhas de vegetais (partes/10⁶) *

| Hortalças | Referências | Máximo | Média | Varição |
|------------|------------------------------|--------|-------|-------------|
| Couve | Richardson, 1907 | | 200 | 35 — 484 |
| | Sinios and Wodsak, 1964 | | | 200 — 450 |
| | Jackson <i>et al.</i> , 1967 | | 317 | 158 — 475 |
| | Achtzehn and Hawat, 1969 | | | 50 — 580 |
| | Rantu <i>et al.</i> , 1972 | | 352 | |
| Chicória | Achtzehn and Hawat, 1969 | | | 80 — 150 |
| Alho porró | Achtzehn and Hawat, 1969 | | | 280 — 860 |
| Alface | Richardson, 1907 | | 1703 | 396 — 3550 |
| | Sinios and Wodsak, 1967 | | | 800 — 1800 |
| | Jackson <i>et al.</i> , 1967 | | 673 | 493 — 902 |
| | Achtzehn and Hawat, 1969 | | | 800 — 1540 |
| | Sobdeva, 1969 | 3547 | | |
| | Lemieszch-Chodorowska, 1972 | 5735 | | |
| | Astier-Dumas, 1973 | | 1700 | |
| Espinafre | Richardson, 1907 | | 1910 | 308 — 3784 |
| | Wilson, 1949 | | | 1600 — 2355 |
| | Simon <i>et al.</i> , 1961 | | | 130 — 1210 |
| | Jackson <i>et al.</i> , 1967 | | 532 | 242 — 748 |
| | Hermann, 1969 | | | 82 — 1770 |
| | Inoue, 1972 | | | 360 — 3300 |
| | Lemieszch-Chodorowska, 1972 | 3413 | | |

* Fonte: WALKER².

a hemoglobina exerça a função normal de transportar oxigênio. Esta correlação foi estabelecida por volta de 1950 por Rosenfield & Huston e uma boa revisão do assunto foi feita por LEE³, em 1970.

A introdução e comercialização dos chamados "alimentos infantis" no Brasil é relativamente recente e pouco tem sido investigado nos mesmos.

A fim de verificarmos quais os níveis de nitratos existentes nos diferentes produtos oferecidos ao consumidor por duas firmas produtoras de alimentos infantis no país, examinamos 85 amostras coletadas nos supermercados de São Paulo, correspondendo a diferentes tipos: sucos, cremes, frutas, pudins, sopas, etc. Também foram analisadas amostras de espinafre fresco e cozido, para verificação dos níveis nesta hortalça.

MATERIAL

Amostras de alimentos infantis, cuja relação está na tabela 2 e amostras de espinafre fresco adquiridas nas feiras-livres de São Paulo, relacionadas nas tabelas 3 e 4.

MÉTODO

Em linhas gerais foi usado o método da determinação de nitrato por redução a nitrito, em coluna de cádmio e medida espectrofotométrica da cor obtida pela reação com alfa-naftol, como foi descrito por LARA *et alii*⁴. As modificações introduzidas foram na etapa de desproteinização das amostras, face à variedade de produtos a serem desproteinizados. Em certos casos foi usado o processo com cloreto de cádmio a um pH igual a 1, descrito por GREEN⁵, que é o seguinte:

Reagentes

Solução de CdCl₂ — Dissolver 50 g de CdCl₂ e 50 g de BaCl₂ em água destilada e diluir a um litro. Ajustar o pH = 1,0 com ácido clorídrico.

Solução de hidróxido de sódio a 10%, p/v.

Procedimento

Transferir 10 g da amostra para um balão volumétrico de 100 ml com auxílio de 30 ml de água. Adicionar 50 ml de solução de cloreto de cádmio. Agitar

TABELA 2

Níveis de nitrato em alimentos infantis calculados em nitrato de sódio

(Continua)

| Amostra n.º | Alimentos infantis | Nitratos, em NaNO ₃ (mg/kg) |
|----------------|--------------------------------|---|
| 1 | Suco de laranja e maçã | — |
| 2 | Suco de laranja e abacaxi | — |
| 3 | Suco de laranja | — |
| 4 | Suco de frutas diversas | — |
| 5 | Suco de laranja-abacaxi-banana | — |
| 6 | Banana com abacaxi | 63 |
| 7 | Creme de maçã | 29 |
| 8 | Cenoura e laranja | 231 |
| 9 | Purê de pera | 12 |
| 10 | Pudim de arroz doce | 52 |
| 11 | Frutas diversas | 30 |
| 12 | Purê de damasco | 26 |
| 13 | Cenoura e laranja | 138 |
| 14 | Maçã | — |
| 15 | Goiabas | — |
| 16 | Banana | 29 |
| 17 | Pudim de laranja | — |
| 18 | Mamão | 25 |
| 19 | Pudim de laranja | — |
| 20 | Maçã | — |
| 21 | Banana e abacaxi | 26 |
| 22 | Maçã e laranja | 8 |
| 23 | Ameixa | — |
| 24 | Frutas sortidas | 12 |
| 25 | Purê de damasco | — |
| 26 | Purê de pêssego | — |
| 27 | Frutas sortidas | 10 |
| 28 | Ameixa | — |
| 29 | Pudim de arroz doce | — |
| 30 | Pêssego | — |
| 31 | Damasco | — |
| 32 | Maçã e banana | 7 |
| 33 | Pudim de arroz doce | — |
| 34 | Purê de banana | 10 |
| 35 | Pudim de baunilha | 9 |
| 36 | Maçã e ameixa | — |
| 37 | Mamão e maçã | — |
| 38 | Goiabas | 27 |
| 39 | Creme de legumes e verduras | 424 |
| 40 | Galinha com legumes e arroz | 66 |
| 41 | Legumes diversos | 132 |
| 42 | Frango com cenoura e batata | 58 |
| 43 | Macarrão e tomate com arroz | 35 |

(Conclusão)

| Amostra n.º | Alimentos infantis | Nitratos, em NaNO ₃ (mg/kg) |
|----------------|----------------------------------|---|
| 44 | Carne com macarrão | 91 |
| 45 | Legumes com carne | 67 |
| 46 | Frango com arroz e ovos | 57 |
| 47 | Carne com macarrão e legumes | 33 |
| 48 | Legumes com figado | 45 |
| 49 | Canjinha | 45 |
| 50 | Frango com macarrão | 48 |
| 51 | Legumes com frango | 173 |
| 52 | Carne com legumes e arroz | 65 |
| 53 | Macarrão e tomate com carne | 17 |
| 54 | Legumes com figado e arroz | 53 |
| 55 | Creme de legumes e verduras | 236 |
| 56 | Creme de espinafre | 1440 |
| 57 | Creme de espinafre | 1538 |
| 58 | Creme de espinafre | 1597 |
| 59 | Creme de espinafre | 1343 |
| 60 | Creme de espinafre | 2314 |
| 61 | Creme de espinafre | 1932 |
| 62 | Carne com batata e mandioquinha | 39 |
| 63 | Cenoura | 183 |
| 64 | Cenoura com arroz | 69 |
| 65 | Legumes variados | 283 |
| 66 | Galinha com legumes | 14 |
| 67 | Figado com legumes | 15 |
| 68 | Carne com arroz e cenoura | 92 |
| 69 | Frango com legumes e cereais | 47 |
| 70 | Galinha com creme de batata | 23 |
| 71 | Carne com batata e cenoura | 9 |
| 72 | Frango com arroz e legumes | 16 |
| 73 | Galinha com arroz e cenoura | 22 |
| 74 | Galinha com batata e cenoura | 30 |
| 75 | Frango com legumes e macarrão | 24 |
| 76 | Frango com creme de legumes | 177 |
| 77 | Cenoura e batata | 130 |
| 78 | Galinha com arroz | 23 |
| 79 | Carne com legumes | 105 |
| 80 | Frango com arroz e gemas de ovos | 9 |
| 81 | Galinha com arroz e cenoura | 50 |
| 82 | Galinha com batata e cenoura | 46 |
| 83 | Frango com arroz e legumes | 22 |
| 84 | Carne com macarrão e legumes | 9 |
| 85 | Frango com creme de legumes | 82 |

(—) = Não desenvolvimento da cor.

TABELA 3

Níveis de nitrato em espinafre cru, calculados em nitrato de sódio

| Amostra n.º | Alimento | Nitratos, em NaNO ₃ (mg/kg) |
|-------------|---------------|--|
| 1 | Espinafre cru | 1.099 |
| 2 | Espinafre cru | 2.629 |
| 3 | Espinafre cru | 1.625 |
| 4 | Espinafre cru | 1.782 |
| 5 | Espinafre cru | 1.981 |
| 6 | Espinafre cru | 1.622 |

TABELA 4

Níveis de nitrato em espinafre cozido, calculados em nitrato de sódio

| Amostra n.º | Alimento | Nitratos, em NaNO ₃ (mg/kg) |
|-------------|----------------------------|--|
| 1 | Espinafre cozido (folhas) | 203 |
| 2 | Espinafre cozido (folhas) | 486 |
| 3 | Espinafre (água de cocção) | 1.168 |
| 4 | Espinafre (água de cocção) | 2.028 |

e deixar descansar por uma hora, agitando ocasionalmente. Adicionar 10 ml da solução de hidróxido de sódio a 10%, completar o volume com água, agitar e filtrar imediatamente em papel Whatman n.º 4. O filtrado está pronto para a passagem em coluna de cádmio⁶.

Este processo é válido para posterior determinação do nitrato, mas não o é para determinação de nitrito que, a um pH inferior a 5,0 não se mantém. Como a presença de nitrito nestes produtos não ultrapassasse 20 mg/l, e não havendo interesse na sua determinação, mas sim na de nitratos, o processo foi usado para desproteinizar os purês.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos estão na tabela 2, onde se pode constatar que as amostras dos produtos denominados "creme de espinafre" apresentaram o mais elevado nível do nitrato. Os dados por nós obtidos são semelhantes aos encontrados por FOGDEN & FOGDEN³, em 1969, e GREEN⁴, em 1970, na Inglaterra, com excessão dos produtos com espinafre que não constam daquelas pesquisas.

FAWCET *et alii*², em 1976, analisaram vários alimentos, entre eles 46 amostras de alimentos infantis. Todas estas amostras es-

tavam isentas de nitrito e 22 continham nitrato, mas o maior valor atingindo foi de 340 mg/kg na amostra de vegetais e galinha a ser diluída 4 vezes.

Para melhor correlacionamento de que realmente é o espinafre o vegetal responsável por esse teor elevado, analisamos algumas amostras de espinafre, cujos resultados estão na tabela 3. Cozinhamos essas amostras e determinamos os teores de nitrato nas folhas cozidas e na água de cozimento (tabela 4). Através desses dados, pudemos ver claramente que os nitratos existentes devem ser solúveis em água. Assim, pois, no uso ou preparo caseiro de espinafre fresco, que normalmente é cozido e a água de cozimento despresada, ele não deve apresentar valores de nitratos tão altos.

CONCLUSÕES

Face aos resultados, foi proposto pelos autores e aceito pela firma responsável pela comercialização dos cremes de espinafre a retirada dos mesmos de sua linha de fabricação. Por outro lado, é urgente o estabelecimento de regulamentação sobre limites máximos de nitratos em alimentos infantis, por parte da Câmara Técnica de Alimentos do Ministério da Saúde.

RIALAG/511

LARA, W.H.; TAKAHASHI, M.Y. & HYABIKU, H.Y. — Levels of nitrate in baby foods. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):147-152, 1980.

ABSTRACT: 85 samples of baby foods such as juices, creams, fruits, puddings and soups, sold at the markets of the city of São Paulo were analysed for their nitrate content. The results show high nitrate levels in products made from spinach, reaching 2,314 mg/kg as sodium nitrate in a sample of spinach cream. The samples which did not contain spinach had low levels and in 23,5% of these nitrate could not be detected. The authors recommend that baby food containing spinach should be withdrawn from the market, and that adequate legislation covering those aspects should be elaborated by the authorities.

DESCRIPTORS: nitrate in baby foods, determination; infant foods, nitrate determination; baby foods, nitrate determination.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Leis, decretos, etc. — Resolução normativa n.º 08-79 da Câmara Técnica de Alimentos do Conselho Nacional de Saúde. *Diário Oficial*, Brasília, DF, 1.º jun. 1979. Seção I, pt. I, p. 7843. Revoga a Resolução n.º 9-76 da CNNPA.
2. FAWCETT, R.; TAME, D.A. & JOHNSON, T.E. — The determination of nitrate and nitrite in food. *J. Ass. publ. Analysts*, 14: 23-5, 1976.
3. FOGDEN, L.A. & FOGDEN, M.W. — A note on the nitrate and nitrite content of some canned baby foods. *J. Ass. publ. Analysts*, 7:133-4, 1969.
4. GREEN, M.S. — Notes on clearing methods for the determination of nitrate and nitrite in canned baby foods. *J. Ass. publ. Analysts*, 8:48-50, 1970.
5. HOATHER, R.C. — Methaenoglobinaemia. *Lancet*, 1:1324-5, 1951.
6. LARA, W.H.; TAKAHASHI, M.Y. & SILVEIRA, N. — Determinação de nitritos e nitratos em conservas de carne. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38:161-6, 1978.
7. LEE, D.H.K. — *Environmental review n.º 2. Nitrates, nitrites and methenoglobinemia*. North Carolina, Research Triangle Park, 1970.
8. NITRITES, nitrates, and nitrosamines in food — a dilemma. *J. Food Sci.*, 37: 989-92, 1972. [Second Scientific Status Summary of the IFT Expert Panel].
9. ROBERTSON, H.E. & DRAYCOTT, M.E. — Nitrate poisoning of infants by contaminated drinking water. *Can. J. publ. Hlth.*, 40:30, 1949.
10. SEBRANEK, J.G. & CASSENS, R.G. — Nitrosamines: a review. *J. Milk Fd Technol.*, 36:76-91, 1973.
11. WALKER, R. — Naturally occurring nitrate/nitrite in foods. *J. Sci. Fd Agric.*, 26: 1735-42, 1975.

Recebido para publicação em 7 de agosto de 1980.

VARIAÇÕES DE NÍVEIS DE AFLATOXINA B₁ EM ALIMENTOS E RAÇÕES ANIMAIS NO PERÍODO DE 1971 A 1979 *

Myrna SABINO **

RIALA6/512

SABINO, M. — Variações de níveis de aflatoxina B₁ em alimentos e rações animais no período de 1971 a 1979. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):153-158, 1980.

RESUMO: Amostras de vários alimentos e rações animais expostos ao consumo no Estado de São Paulo e em várias outras regiões do Brasil foram examinadas por cromatografia em camada delgada a fim de ser determinada aflatoxina B₁. As variações de níveis de 1971 a 1979 foram expressas em várias tabelas e gráficos. Os limites detectados para essa micotoxina foram de 50 a 7.800 µg/kg (ppb) superiores aos valores tolerados pela legislação brasileira.

DESCRIPTORIOS: aflatoxina B₁, determinação em alimentos e rações animais; alimentos, determinação de aflatoxina B₁; rações animais, determinação de aflatoxina B₁.

INTRODUÇÃO

As aflatoxinas estão entre os produtos metabólicos de natureza tóxica e são produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*. Estes microrganismos contaminam um grande número de produtos alimentícios, podendo-se citar, entre outros, as sementes oleaginosas, os cereais, as raízes e os tubérculos. Dentre os fungos, os mais importantes nesse aspecto são o *Aspergillus flavus* e o *Aspergillus parasiticus*.

A aflatoxina B₁ é considerada como um dos mais poderosos hepatotóxicos, e potente carcinogênico químico².

Os alimentos são freqüentemente contaminados com fungos durante a colheita, estocagem e manuseio, antes de chegarem ao consumidor. Considerando os perigos que um alimento ou ração contaminada representa para o homem ou animais e a alta incidência de hepatoma humano em zonas tropicais de Kênia, Moçambique, Swazilândia e Tailândia, onde os habitantes estão expostos à ingestão regular de alimentos contaminados³, realça a necessidade de um contínuo e sistemático controle sobre as condições higiênicas na fa-

bricação e armazenamento de alimentos e rações, pois a seleção das matérias-primas utilizadas garante uma triagem do material contaminado, evitando sua industrialização.

Baseados nestas considerações, resolvemos fazer um estudo sobre as variações dos níveis de aflatoxina em alimentos, de 1971 a 1979.

Em 1969, fizemos um levantamento preliminar em farinhas de amendoim e verificamos que, praticamente, todas as farinhas de amendoim destinadas à fabricação de rações animais continham aflatoxina B₁ em quantidades superiores a 1.000 µg/kg (ppb)³. Do mesmo modo, farinha de amendoim destinada ao consumo humano apresentava-se contaminada por aflatoxina.

Posteriormente passamos a um controle sistemático desta toxina em rações e grupos de alimentos de diferentes regiões geográficas do país.

Convém salientar que o Instituto Adolfo Lutz é um Centro Colaborador do Programa FAO/OMS de Contaminação de Alimentos, remetendo anualmente a essa organização dados analíticos sobre aflatoxina, resíduos de pesticidas, e contaminantes metálicos.

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

MATERIAL E MÉTODO

Amostras de amendoim e derivados, de farinha de soja, milho, trigo, aveia, mandioca, arroz, alimentos preparados, e de vários tipos de ração animal, num total de 572, solicitadas para análise no Instituto Adolfo Lutz, foram utilizadas para determinação de aflatoxina B₁.

O método empregado foi o de Pregnotatto & Sabino, que consiste na extração, purificação e cromatografia em camada delgada.

RESULTADOS

As tabelas de 1 a 6 demonstram os níveis de aflatoxina B₁ encontrados em 572 amostras de diversos alimentos e rações animais analisados no período de 1971 a 1979.

As figuras 1 e 2 apresentam a distribuição de freqüência dos resultados de aflatoxina B₁ nos períodos de 1971 a 1975 e de 1976 a 1979.

Os teores de aflatoxina B₁ foram expressos em µg/kg (ppb) e o não aparecimento de fluorescência no cromatograma foi representado pela abreviatura N.E. (não encontrada).

TABELA 1

Níveis de aflatoxina B₁ em farinha de soja, farinha de amendoim e derivados, farinha de mandioca, arroz, aveia, milho e trigo, no período de 1971 a 1975

| N.º amostras analisadas | Tipo de amostra | Níveis de aflatoxina B ₁ µg/kg (ppb) |
|-------------------------|--|--|
| 16 | Farinha de soja | 50 |
| 11 | Farinha de soja | De 450 a 800 |
| 9 | Farinha de soja | N.E.* |
| 21 | Farinha de amendoim e derivados | De 200 a 7.800 |
| 3 | Farinha de amendoim e derivados | 50 |
| 11 | Farinha de amendoim e derivados | N.E. |
| 19 | Farinha de mandioca | N.E. |
| 13 | Farinha de mandioca | De 1.000 a 5.000 |
| 1 | Arroz, aveia, milho, trigo | 50 |
| 24 | Arroz, aveia, milho, trigo | N.E. |
| 6 | Arroz, aveia, milho, trigo | De 1.000 a 2.600 |
| Total 134 | *N.E. = Não aparecimento de fluorescência no cromatograma. | |

TABELA 2

Níveis de aflatoxina B₁ em alimentos preparados e rações, no período de 1971 a 1975

| N.º amostras analisadas | Tipo de amostra | Níveis de aflatoxina B ₁ µg/kg (ppb) |
|-------------------------|----------------------|--|
| 1 | Alimentos preparados | 400 |
| 12 | Alimentos preparados | 50 |
| 69 | Alimentos preparados | N.E. |
| 10 | Rações | 50 |
| 17 | Rações | De 100 a 3.400 |
| 57 | Rações | N.E. |
| Total 166 | | |

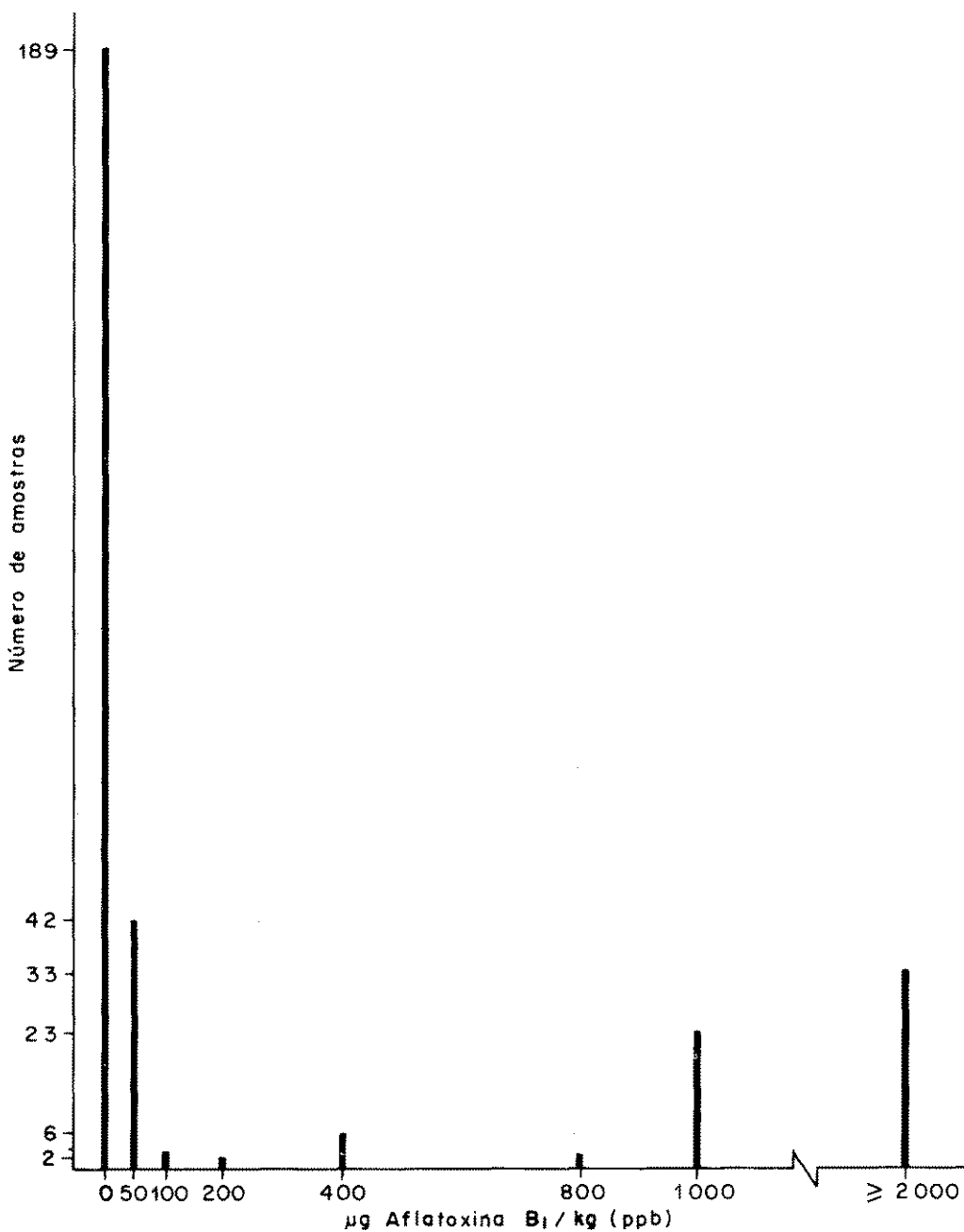


FIGURA 1 — Distribuição da freqüência dos resultados de aflatoxina B₁ em alimentos e rações animais no período de 1971 a 1975.

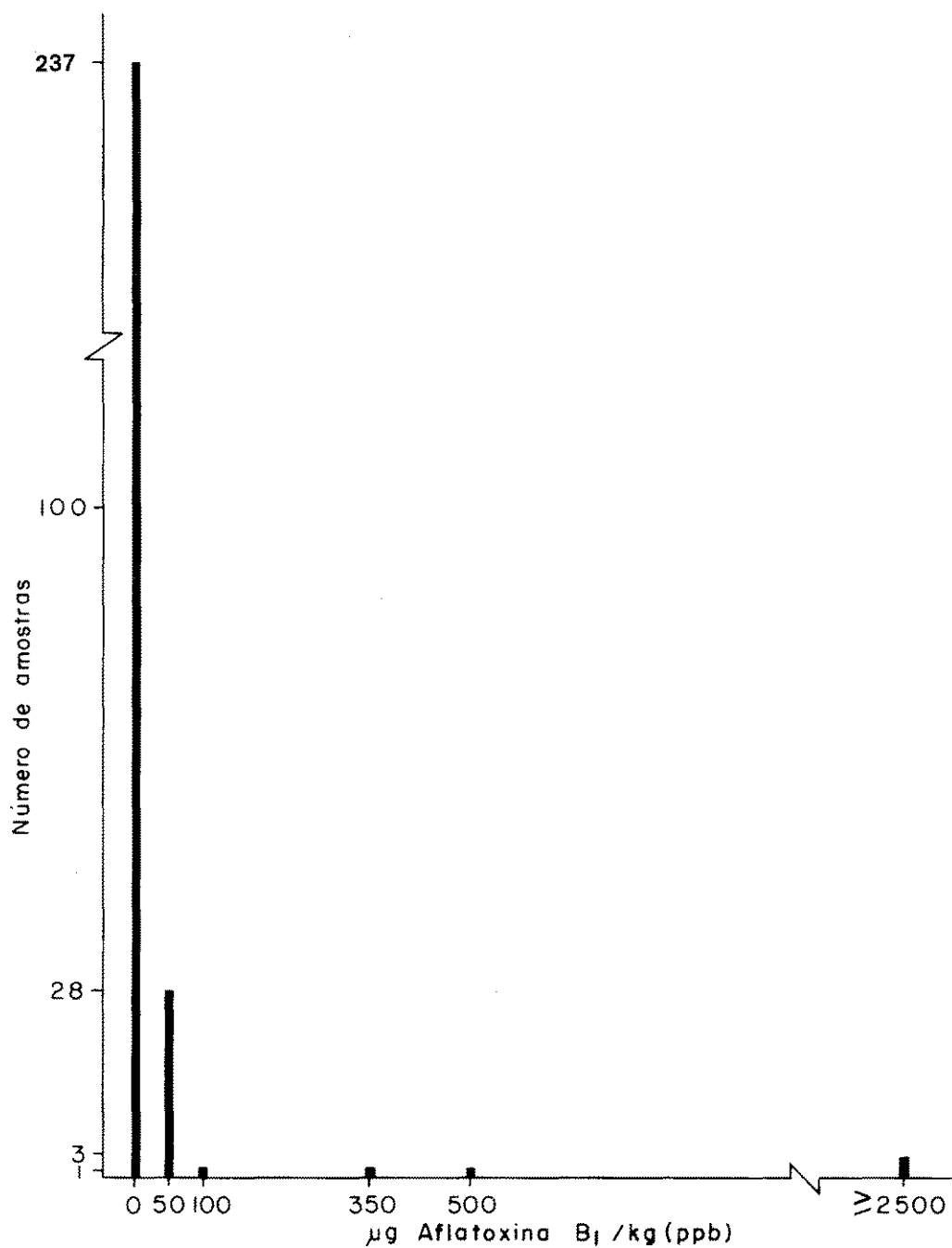


FIGURA 2 — Distribuição da freqüência dos resultados de aflatoxina B₁ em alimentos e rações animais no período de 1976 a 1979.

SABINO, M. — Variações de níveis de aflatoxina B₁ em alimentos e rações animais no período de 1971 a 1979. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):153-158, 1980.

TABELA 3

Níveis de aflatoxina B₁ em alimentos preparados e rações, no período de 1976 a 1977

| N.º amostras analisadas | Tipo de amostra | Níveis de aflatoxina B ₁ µg/kg (ppb) |
|-------------------------|----------------------|--|
| 1 | Alimentos preparados | 500 |
| 11 | Alimentos preparados | 50 |
| 101 | Alimentos preparados | N.E. |
| 2 | Rações | 6.000 |
| 8 | Rações | 50 |
| 38 | Rações | N.E. |
| Total 161 | | |

TABELA 4

Níveis de aflatoxina B₁ em alimentos preparados, amendoim e derivados, farinha de mandioca e rações em 1978

| N.º amostras analisadas | Tipo de amostra | Níveis de aflatoxina B ₁ µg/kg (ppb) |
|-------------------------|----------------------|--|
| 29 | Alimentos preparados | N.E. |
| 1 | Alimentos preparados | 50 |
| 1 | Alimentos preparados | 100 |
| 14 | Amendoim e derivados | N.E. |
| 5 | Amendoim e derivados | 50 |
| 2 | Farinha de mandioca | N.E. |
| 1 | Farinha de mandioca | 50 |
| 8 | Rações | N.E. |
| Total 61 | | |

TABELA 5

Níveis de aflatoxina B₁ em alimentos preparados, amendoim e derivados e rações em 1979

| N.º amostras analisadas | Tipo de amostra | Níveis de aflatoxina B ₁ µg/kg (ppb) |
|-------------------------|----------------------|--|
| 11 | Alimentos preparados | N.E. |
| 22 | Amendoim e derivados | N.E. |
| 2 | Amendoim e derivados | 50 |
| 1 | Amendoim e derivados | 2.500 |
| 12 | Rações | N.E. |
| 1 | Rações | 50 |
| 1 | Rações | 340 |
| Total 50 | | |

TABELA 6

Tabela demonstrativa dos valores de aflatoxina B₁ em alimentos e rações animais no período de 1971 a 1979

| Ano | n.º | Amostras analisadas | | | | |
|-----------|-----|---------------------|------|-----------------------------|------|-------------|
| | | Negativas | | Positivas acima de 30 µg/kg | | |
| | | n.º | % | n.º | % | Média µg/kg |
| 1971/1975 | 300 | 189 | 63 | 111 | 37,0 | 1.131 |
| 1976/1977 | 161 | 139 | 86,4 | 22 | 13,6 | 638 |
| 1978 | 61 | 53 | 87,0 | 8 | 13,0 | 57 |
| 1979 | 50 | 45 | 90,0 | 5 | 10,0 | 598 |

CONCLUSÃO E RECOMENDAÇÃO

Pelos resultados apresentados, pode-se observar que a aflatoxina B₁ esteve presente em um número elevado de amostras de alimentos e rações animais, variando de 50 a 7.800 ppb (µg/kg), portanto muito acima de 30 ppb (µg/kg) que é a tolerância máxima para a aflatoxina permitida pela legislação brasileira¹.

É importante que exista um contínuo e sistemático controle dos alimentos e rações animais com relação às aflatoxinas, pois os mais altos índices de contaminação dos alimentos por micotoxinas são encontrados em regiões tropicais e semitropicais, onde o clima favorece o desenvolvimento de fungos toxicogênicos.

RIALA6/512

SABINO, M. — Variations in levels of aflatoxin B₁ in foods and animal feeds during the period from 1971 to 1979.

ABSTRACT: Samples of several foods and animal feeds exposed for consumption in São Paulo State and in various areas of Brazil were examined by thin-layer chromatography in order to determine aflatoxin B₁. The variations in levels of aflatoxin B₁, during the period from 1971 to 1979, were presented in some tables and figures. Concerning this aflatoxin, the limits detected were from 50 to 7,800 µg/kg (ppb), thus over the values tolerated by Brazilian legislation.

DESCRIPTORS: aflatoxin B₁, determination in foods and animal feeds; foods, determination of aflatoxin B₁; animal feeds determination of aflatoxin B₁.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Leis, decretos, etc. — Resolução n.º 34-76. *Diário Oficial*, Rio de Janeiro, 19 jan. 1977. Seção I, pt. 1, p. 710. Fixa padrões de tolerância para as aflatoxinas em alimentos.
- 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, IAR, 1972] v.1, p. 145-156.
- JOINT/FAO/WHO/UNEP CONFERENCE ON MYCOTOXINS. Nairobi, 1977. *Report*. Roma, FAO, 1977. p. 5.
- PREGNOLATTO, W. & SABINO, M. — Pesquisa e dosagem de aflatoxina em amendoim e derivados e em outros cereais. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 29/30:65-71, 1969/70.

Recebido para publicação em 7 de agosto de 1980.

INTERAÇÃO ENTRE HELMINTOS PARASITAS INTESTINAIS DE MURÍDEOS CAPTURADOS NO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO, SP, BRASIL *

Pedro Paulo CHIEFFI**
Domingas Maria A. GRISPINO**
Rosa Maria D. Souza DIAS**
Ana Célia S. MANGINI**
Marilda L. da Silva GUEDES***

RIALA6/513

CHIEFFI, P.P.; GRISPINO, D.M.A.; DIAS, R.M.D.S.; MANGINI, A.C.S. & GUEDES, M.L.S. — Interação entre helmintos parasitas intestinais de murídeos capturados no município de São Paulo, SP, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):159-163, 1980.

RESUMO: Em 205 murídeos capturados vivos nos limites do município de São Paulo, no período compreendido entre maio de 1977 e agosto de 1979, estudou-se o padrão de ocorrência de associações entre as espécies de helmintos parasitas intestinais mais freqüentes, procurando determinar a existência de interações negativas ou efeito sinérgico entre as diferentes espécies. Os resultados obtidos indicam que, em condições de campo, não ocorreram interações negativas entre espécies que, em trabalhos experimentais, apresentavam tal comportamento. Todavia, há indicações de que fenômenos inibitórios possam ocorrer quando se associam, no mesmo hospedeiro, *Nippostrongylus brasiliensis* e *Heterakis spumosa*. Com relação à associação de três espécies de helmintos entre si em condições de campo, a análise estatística dos resultados obtidos não permite supor a ocorrência de efeitos sinérgicos ou interações negativas entre as espécies.

DESCRITORES: ratos, parasitismo por helmintos; ratos, parasitismo associado, município de São Paulo, SP, Brasil; helmintos, associação, em ratos.

INTRODUÇÃO

Reveste-se de grande interesse a abordagem das relações hospedeiro-parasita, considerando a ocorrência de interações entre populações de parasitas, na medida em que os hospedeiros são, em condições naturais, submetidos a pressões ecológicas que resultam muitas vezes em infecções múltiplas, traduzindo-se por agravos que podem não ser apenas a somatória das ações individuais de cada espécie parasita.

Existem diversos estudos a respeito de interações entre parasitas albergados por um

mesmo hospedeiro relatando ação competitiva, desenvolvimento de imunidade cruzada, sinergismo ou mesmo coexistência indiferente entre diversas espécies de organismos que compartilham o mesmo micro-habitat^{2, 9, 11, 14, 16}. Em determinadas circunstâncias, todavia, as alterações que se estabelecem entre organismos de espécies diversas que vivem como parasitas em um mesmo hospedeiro resultam em interações negativas que afetam outros organismos, tornando-se mais acentuado este tipo de ação quando as espécies associadas são simpátricas¹⁰.

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

** Do Serviço de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz.

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

São raros, em nosso meio, trabalhos que estudem a associação entre parasitas em um mesmo hospedeiro; os poucos existentes quase que exclusivamente se referem a condições experimentais, por vezes muito distantes das que ocorrem em natureza.

Em publicação anterior¹ analisaram-se a prevalência e a intensidade de infecção por helmintos parasitas do aparelho digestivo em 205 murídeos capturados vivos nos limites do município de São Paulo, assinalando-se a presença de 13 espécies diferentes de helmintos. É objetivo do presente trabalho tecer algumas considerações sobre possíveis interações entre as espécies de maior frequência dentre todas as encontradas como parasitas do lúmen ou da mucosa intestinal, neste grupo de roedores.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante o período compreendido entre maio de 1977 e agosto de 1979, capturaram-se vivos, em diversos pontos da cidade de São Paulo, 191 exemplares de *Rattus norvegicus* e 14 de *E. rattus*, perfazendo 205 roedores. A maneira pela qual se realizou a captura, a classificação e a necropsia destes animais está descrita em outra publicação², bem como a prevalência e a intensidade de parasitismo por helmintos parasitas do aparelho digestivo.

Dentre as 13 espécies de helmintos encontradas nestes roedores, escolheram-se as seis mais frequentes no lúmen ou mucosa intestinal para proceder-se análise a respeito de interações interespecíficas entre parasitas nestes hospedeiros.

Optou-se por determinar as associações de espécies encontradas no mesmo roedor considerando-se, em primeiro lugar, associações de duas espécies entre si e, a seguir, de três espécies. Não se levou em conta a ocorrência de associação com maior número de espécies, em decorrência de sua frequência ter sido pouco expressiva.

A análise das interações entre as diversas espécies se realizou pela comparação entre a frequência teoricamente esperada para uma determinada associação de helmintos e a frequência real observada nos ratos necropsiados. Considerou-se como frequência esperada de associação entre duas ou três espécies o resultado do produto da prevalência real das espécies em questão, em concordância com o conceito matemático de interseção de conjuntos.

Os resultados foram submetidos à análise estatística, empregando-se o teste de χ^2 .

RESULTADOS

As tabelas 1 e 2 mostram o padrão de associação — consideradas as espécies associadas duas a duas — verificado entre os 205 murídeos estudados. Na tabela 2, nas caselas assinaladas na diagonal, estão expressas as prevalências reais de cada espécie de helminto; nas demais caselas constam as prevalências

esperada e observada para as respectivas associações de espécies.

As principais associações de três espécies entre si encontradas nos 205 murídeos estão discriminadas na tabela 3, onde se mostram também as frequências esperada e observada para estas associações.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A adequada compreensão do fenômeno parasitismo pressupõe o conhecimento de todas as relações que se estabelecem entre parasita e hospedeiro, bem como das interações entre as diversas espécies componentes da biocenose que habita o organismo do hospedeiro — da qual determinado parasita é apenas um dos componentes — e o próprio hospedeiro.

Em trabalhos experimentais bem planejados, é possível utilizar-se sistemas em que as variáveis envolvidas são bem conhecidas e controladas. Entretanto, em condições de campo, muitas variáveis significativas comumente fogem ao controle rígido do pesquisador que, não raras vezes, ao estudar fenômeno atribuído a determinado parasita, pode estar observando o resultado da interação de mais de uma espécie de parasitas. Conhecem-se na literatura trabalhos indicando aumento de virulência de certos parasitas — bem tolerados quando isolados — na presença de outras espécies infectantes para o mesmo hospedeiro^{2, 9, 10}, bem como exemplos de interação negativa entre espécies correlatas de parasitas, quando presentes concomitantemente em determinado hospedeiro^{11, 12}. Por outro lado, há casos de organismos que têm sua fecundidade aumentada, facilitando sua sobrevivência no hospedeiro, quando associados a outro parasita⁶.

Os animais estudados no presente trabalho foram capturados em campo, em diversos pontos dos limites urbanos do município de São Paulo, e a fauna helmintológica que albergam em seu tubo digestivo é provavelmente representativa dos fenômenos de associação parasitária que ocorrem nesta região, permitindo, respeitadas as limitações inerentes a este tipo de enfoque, uma análise das interações entre as espécies de helmintos presentes.

A análise da tabela 2 mostra que, com algumas exceções, na maioria dos casos a associação de espécies de helmintos parasitas do intestino dos murídeos capturados obedeceu à frequência teoricamente esperada. Tal achado não demonstra, nas condições prevalentes neste trabalho, resistência cruzada entre *Nippostrongylus brasiliensis* e *Strongyloides* sp., observada por KAZACOS & THORSON⁸ em condições experimentais, nem resistência ao parasitismo por *Hymenolepis nana* em ratos que albergam *Nippostrongylus brasiliensis*, a exemplo do que relataram LARSH & DONALDSON¹¹.

Convém ressaltar, contudo, que as condições ecológicas a que se encontravam submetidos os roedores estudados são muito diversas das prevalentes em trabalhos de laboratório, po-

CHIEFFI, P.P.; GRISPINO, D.M.A.; DIAS, R.M.D.S.; MANGINI, A.C.S. & GUEDES, M.L.S. — Interação entre helmintos parasitas intestinais de murídeos capturados no município de São Paulo, SP, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):159-163, 1980.

TABELA 1

Associação entre helmintos parasitas do lúmen ou mucosa intestinal em 205 murídeos capturados no município de São Paulo, 1977-79

| Associações de helmintos | N.b. | Strong. | H.n. | H.d. | H.s. | M.m. |
|--------------------------|------|---------|------|------|------|------|
| N.b. | 167 | — | — | — | — | — |
| Strong. | 67 | 84 | — | — | — | — |
| H.n. | 57 | 23 | 65 | — | — | — |
| H.d. | 26 | 10 | 13 | 32 | — | — |
| H.s. | 22 | 17 | 12 | 4 | 38 | — |
| M.m. | 9 | 4 | 1 | 4 | 1 | 16 |

Legenda: N.b. = *Nippostrongylus brasiliensis*; Strong. = *Strongyloides* sp.; H.n. = *Hymenolepis nana*; H.d. = *Hymenolepis diminuta*; H.s. = *Heterakis spumosa*; M.m. = *Moniliformis moniliformis*.

TABELA 2

Frequências esperada e observada de associação entre helmintos parasitas intestinais em 205 murídeos capturados no município de São Paulo, 1977-79

| Prevalência de infecção por | N. b. | Strong. | H.n. | H.d. | H.s. | M.m. |
|-----------------------------|-----------------|--------------|------------|------------|------------|------|
| N.b. | 81,4 | | | | | |
| Strong. | 33,4* 33,2** | 41,0 | | | | |
| H.n. | 25,8 27,7 | 13,0 11,2 | 31,7 | | | |
| H.d. | 12,8 12,7 | 6,4 4,9 | 4,8 6,3 | 15,6 | | |
| H.s. | 15,1 10,7 | 7,6 8,3 | 5,9 5,9 | 2,9 1,9 | 18,5 | |
| M.m. | 6,4 4,4 | 3,2 1,9 | 2,5 0,5 | 1,2 1,9 | 1,4 0,5 | 7,8 |

(*) Frequência esperada.

(**) Frequência observada.

TABELA 3

Frequências esperada e observada das principais associações de três espécies de helmintos parasitas intestinais em 205 murídeos capturados no município de São Paulo, 1977-79

| Associações de helmintos | Número | Frequência esperada | Frequência observada | χ^2 (*) |
|--------------------------|--------|---------------------|----------------------|--------------|
| N.b. + H.d. + Strong. | 12 | 4,0 | 5,8 | 2,08 |
| N.b. + H.n. + Strong. | 22 | 10,6 | 10,7 | 0,00 |
| N.b. + H.s. + Strong. | 18 | 6,2 | 8,7 | 2,35 |
| N.b. + H.d. + Strong. | 8 | 5,2 | 3,9 | 0,70 |
| N.b. + H.n. + H.s. | 8 | 4,8 | 3,9 | 0,36 |

(*) Valores não significantes para $p=0,05$

dendo alterar, significativamente, os resultados observados. Assim, embora se conheça há longo tempo o fenômeno de cura espontânea para muitas helmintoses em animais¹⁷, as prevalências de *Nippostrongylus brasiliensis* e *Strongyloides* sp. neste grupo de murídeos foram sempre elevadas e semelhantes, qualquer que fosse a idade dos animais¹, indicando que ao fenômeno de eliminação espontânea dos helmintos não se seguiu estado de resistência à reinfeção, observado em estudos experimentais^{12, 13}. É possível que tal fato se deva ao estabelecimento de tolerância imunológica do organismo hospedeiro a estes helmintos, em consequência de repetidas infecções desde os primeiros dias de vida^{6, 7}, facilitadas pela intensa contaminação dos ecótopos ocupados pelos roedores.

Todavia, em relação à associação *Nippostrongylus brasiliensis* — *Heterakis spumosa*, os resultados sugerem existência de interação

negativa entre ambas as espécies, fato já registrado experimental por DÜWEL¹.

É interessante citar que no caso de parasitismo por *Moniliformis moniliformis* notou-se, em nível superior ao esperado, a ocorrência de parasitismo isolado, além de interações negativas nas associações deste acantocéfalo com *Hymenolepis nana* e *Heterakis spumosa*, embora a baixa frequência de infecção não permita observações mais consistentes.

Com relação à ocorrência de três espécies de helmintos ao mesmo tempo, no mesmo hospedeiro (tabela 3), embora em algumas ocasiões a frequência observada apresente certa discordância com a teoricamente esperada, a análise estatística dos resultados não se mostrou significativa, indicando inexistência, nas condições prevalentes no trabalho, de interações negativas ou efeito sinérgico entre os helmintos encontrados.

RIALA6/513

CHIEFFI, P.P.; GRISPINO, D.M.A.; DIAS, R.M.D.S.; MANGINI, A.C.S. & GUEDES, M.L.S. — Mutual influence among intestinal parasitic helminths in rats collected in São Paulo county, State of São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):159-163, 1980.

ABSTRACT: In 205 live trapped rats captured in the limits of São Paulo county, during the period from May 1977 to August 1979, the pattern of association between intestinal helminth species was examined, concerning to determine the occurrence of negative interaction or synergic effect between various species. The results achieved through this study demonstrate that, in field conditions, there was no evidence of negative interactions, on the contrary to experimental studies where this aspect could be found, by other workers. However, there are evidences that inhibitory phenomenons may occur when there is association of both species *Nippostrongylus brasiliensis* and *Heterakis spumosa* living on the same host. In respect to the association of three species of helminths on the same host, in field conditions, based on the statistical analysis of results, it does not make possible to assume the occurrence of synergic effects or negative interactions among the species.

DESCRIPTORS: rats, parasitism by helminths; rats, parasitic association, São Paulo County, SP, Brazil; helminths association in rats.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CHIEFFI, P.P.; GRISPINO, D.M.A.; MANGINI, A.C.S.; DIAS, R.M.S.; VILLANOVA, A.; GUIDUGLI, N.R. & SOUZA, A. — Helmintos parasitas do aparelho digestivo de murídeos capturados no município de São Paulo, SP, Brasil. Prevalência, intensidade de parasitismo e importância em Saúde Pública. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(1):35-41, 1980.
2. COX, F.E.G. — Increased virulence of trypanosome infections in mice with malaria or piroplasmiasis: immunological considerations. In: VAN DEN BOSSCHE, P., ed. — *Biochemistry of parasites and host-parasite relationships*. Amsterdam, North-Holland Publ., 1976. p. 421-6.
3. DÜWEL, D. — Mutual influence of parasites. Studies in laboratory animals. In: SOULSBY, E.J.L., ed. — *The reaction of the host to parasitism*. Lyon, School of Veterinary Medicine, 1967. p. 114-22.
4. HALVØRSEN, O. — Negative interaction amongst parasites. In: KENNEDY, C.R., ed. — *Ecological aspects of Parasitology*. Amsterdam, North-Holland Publ. 1976. p. 99-114.
5. JENKINS, D.C. — The influence of *Nematospiroides dubius* on subsequent *Nippostrongylus brasiliensis* in mice. *Parasitology*, 71:349-55, 1975.
6. KASSAI, T. — Immunological tolerance to *Nippostrongylus brasiliensis* infection in rats. In: SOULSBY, E.J.L., ed. — *The reaction of the host to parasitism*. Lyon, School of Veterinary Medicine, 1967. p. 250-8.
7. KASSAI, T. & AITKEN, I.D. — Induction of immunological tolerance in rats to *Nippostrongylus brasiliensis* infection. *Parasitology*, 57:403-18, 1967.
8. KAZACOS, K.R. & THORSON, R.E. — Cross-resistance between *Nippostrongylus brasiliensis* and *Strongyloides ratti* in rats. *J. Parasit.*, 61:525-9, 1975.
9. KLOETZEL, K.; CHIEFFI, P.P.; FALEIROS, J.J. & MERLUZZI FILHO, T.J. — Mortality and other parameters of other parameters of concomitant infections in albino mice: the *Schistosoma* — *Toxoplasma* model. *Trop. geogr. Med.*, 29:407-10, 1977.
10. KLOETZEL, K.; FALEIROS, J.J.; MENDES, S.R.; STANLEY, C.T. & ARIAS, H.S. — Concomitant infection of albino mice by *Trypanosoma cruzi* and *Schistosoma mansoni*. Parasitological parameters. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 67:652-8, 1973.
11. LARSH, J.E., Jr. & DONALDSON, A.W. — The effect of concurrent infection with *Nippostrongylus* on the development of *Hymenolepis* in mice. *J. Parasit.*, 30:18-20, 1944.
12. LOVE, R.J. — *Nippostrongylus brasiliensis* infection in mice: the immunological basis of worm expulsion. *Parasitology*, 70:11-8, 1975.
13. MOQBEL, R. & DENHAM, D.A. — *Strongyloides ratti*: 1. Parasitological observations on primary and secondary infections in the small intestine of rats. *J. Helminth.*, 51:301-8, 1977.
14. PAPERNA, I. — Competitive exclusion of *Dactylogyrus extensus* by *Dactylogyrus vastator* (Trematoda, Monogenea) on the gills of reared carp. *J. Parasit.*, 50:94-8, 1964.
15. PAPERNA, I. & KOHN, A. — Studies on the host-parasite relations between carps and populations of protozoa and monogenetic trematodes in mixed infestations. *Rev. bras. Biol.*, 24:269-76, 1964.
16. SINGHVI, A. & JOHNSON, S. — Population dynamics on the nematode parasites of the house rat, *Rattus rattus*. *Rev. bras. Biol.*, 39:43-52, 1979.
17. SOULSBY, E.J.L. — The mechanisms of immunity to gastrointestinal nematodes. In: SOULSBY, E.J.L., ed. — *Biology of parasites. Emphasis on Veterinary parasites*. New York, Academic Press., 1966. p. 255-76.
18. THOMAS, J.D. — Studies on population of helminth parasites in brown trout (*Salmo trutta* L.). *J. anim. Ecol.*, 33:83-95, 1964.

Recebido para publicação em 7 de agosto de 1980.

PRIMEIRO ENCONTRO DE *BIOMPHALARIA STRAMINEA* DUNKER,
1848, NO MUNICÍPIO DE CRUZEIRO, VALE DO PARAÍBA, ESTADO
DE SÃO PAULO, NATURALMENTE INFECTADA POR CERCARIAS
DE *SCHISTOSOMA MANSONI* *

Nota prévia

Luiz dos SANTOS**

Ioli Bueno COSTA**

Constança C. Simões Barbosa FIGUEIREDO***

Marli Aparecida G. ALTOMANI***

RIALAG/514

SANTOS, L.; COSTA, I.B.; FIGUEIREDO, C.C.S.B. & ALTOMANI, M.A.G. —
Primeiro encontro de *Biomphalaria straminea* Dunker, 1848, no município de
Cruzeiro, Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, naturalmente infectada por
cercárias de *Schistosoma mansoni*. Nota prévia. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):
165-166, 1980.

DESCRITORES: *Biomphalaria straminea* no município de Cruzeiro, Vale do
Paraíba, São Paulo, Brasil; *Schistosoma mansoni*, vetores.

Desde 1975, quando descobrimos no Instituto Adolfo Lutz (Laboratório I de Taubaté) o primeiro foco de *Biomphalaria straminea*, localizado no município de Cruzeiro, Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, temos periodicamente examinado amostras dessa espécie de planorbídeo, sem nunca as ter encontrado albergando cercárias de *Schistosoma mansoni*.

Recentemente, no entanto, resolvemos efetuar um trabalho de pesquisa, visando estudar a susceptibilidade de *B. straminea* a diversas cepas de *S. mansoni*; para isso, coletamos, em 1-9-80, novas amostras desses caramujos no município acima referido. Examinamos 720 exemplares de *B. straminea* dos quais um, após exposição à luz, estava eliminando cercárias de *S. mansoni*.

Tal achado reveste-se de grande importância epidemiológica pois a *B. straminea* é um bom transmissor da esquistossomíase no norte e nordeste do Brasil e agora esta espécie instalou-se e adaptou-se em um foco na cidade de Cruzeiro.

Não se sabe ainda de que maneira ou de onde vieram esses caramujos. Mas esse primeiro encontro de *B. straminea*, naturalmente infectada por *S. mansoni*, pode significar que esta espécie poderá tornar-se novo e perigoso agente disseminador da esquistossomíase no Vale do Paraíba, se novas e energéticas medidas não vierem a ser tomadas pelos órgãos competentes, a fim de erradicar esse foco e evitar a proliferação dessa espécie de planorbídeo em nossa região.

* Trabalho em andamento no Laboratório I de Taubaté do Instituto Adolfo Lutz.

** Do Laboratório I de Taubaté do Instituto Adolfo Lutz.

*** Do Curso de Bacharelado em Biologia, Universidade de Taubaté, SP.

SANTOS, L.; COSTA, I.B.; FIGUEIREDO, C.C.S.B. & ALTOMANI, M.A.G. — Primeiro encontro de *Biomphalaria straminea* Dunker, 1848, no município de Cruzeiro (Vale do Paraíba, Estado de São Paulo), naturalmente infectada por cercárias de *Schistosoma mansoni*. Nota prévia. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):165-166, 1980.

RIALAG/514

SANTOS, L.; COSTA, I.B.; FIGUEIREDO, C.C.S.B. & ALTOMANI, M.A.G. — First identification of *Biomphalaria straminea* Dunker, 1848, naturally infected by *Schistosoma mansoni* cercarias in the county of Cruzeiro, Valley of Paraíba River, State of São Paulo, Brazil. Preliminary note. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(2):165-166, 1980.

DESCRIPTORS: *Biomphalaria straminea*, county of Cruzeiro, Vale do Paraíba, São Paulo, Brazil; *Schistosoma mansoni*, vectors.

Recebido para publicação em 1.º de outubro de 1980.

INDICE DE AUTOR/AUTHOR INDEX

ALTOMANI, M.A.G., 165
ALVES, H.I., 23
ALVES, V.A.F., 101
AMANO, R.N., 77
BARRETTO, H.H.C., 29, 65
BELLUOMINI, H.E., 9
BIASI, P., 9
BRANT, P.C., 15
CALZADA, C.T., 77, 107
CASTANHO, M.L.S., 1
CERQUEIRA, R.L., 1
CHIEFFI, P.P., 35, 159
CORRÊA, L.L., 59, 89
CORRÊA, M.O.A., 59, 75, 89
COSTA, I.B., 165
DIAS, R.M.D.S., 35, 159
DIAS, R.M.S., veja DIAS, R.M.D.S.
DINIZ, J.M.P., 49
ESPER, M.R.N.R., 77
FIGUEIREDO, C.C.S.B., 165
FREITAS, A.M., 77
GARRIDO, N.S., 55
GAYOTTO, L.C.C., 101
GODANO, A., 9
GOMES, M.C.G., 129
GONÇALVES, M.J., 97
GRISPINO, D.M.A., 35, 159
GUEDES, M.L.S., 159
GUIDUGLI, N.R., 35
HYAKUTAKE, S., 1, 9
INOMATA, O.N.K., 29, 65
IRINO, K., 107
JOSEPH Jr., H., 43
KAWARABAYASHI, M., 1, 9
KNOBEL, M.G., 43
LAJOLO, F.M., 135
LARA, W.H., 29, 65, 147
LIMA, M.A.P., 83
MACORIS, S.A.G., 49
MAIA, R., 15
MANGINI, A.C.S., 35, 159
MARTINS, M.A., 83
MEIRA, D.R., 129
MITSUKA, H., 83

MORAES, C.R., 83
MORAIS, C.F., 101
MUCCIOLÒ, P., 129
MURATA, L.T.F., 55
PACHECO, J.A., 23
PAES, R.A.P., 97
PASCHOAL, S.M.P., 83
PESSÓA, G.V.A., 77, 107
PREGNOLATTO, N.P., 55
PRÓSPERO, J.D., 97
RAHAL, F., 97
RASKIN, M., 107
RORIZ, T., 23
SABINO, M., 153
SANTA ROSA, C.A., 9
SANTOS, L., 165
SANTOS, R.T.M., 101
SILVA, M.I.P.G., 59, 89
SILVA, R.M., 59, 89
SOUZA, A., 35
SPIR, M., 77
SPITERI, N., 23
SUGUIMORI, R.T., 107
TAKAHASHI, M.Y., 147
TAKEDA, A.K., 101
TOLEZANO, J.E., 49, 83
UEDA, M., 83
VAZ, J.F., 89
VESCIO, E.L., 97
VILLANOVA, A., 35
YABIKU, H.Y., 135, 147
YAMANAKA, M.T., 59, 89
ZAMBONI, C.Q., 23

ÍNDICE DE ASSUNTO

- Actinomicose apendicular
estudo anatomo-clínico, 97
- Aflatoxina B
em alimentos, determinação
cromatografia em camada delgada, 153
em rações animais
cromatografia em camada delgada, 153
- Alimentos
aflatoxina B, determinação, 153
- Alimentos infantis
nitrato, determinação, 147
- Antígeno Austrália
veja Antígeno de superfície, hepatite B
- Antígeno de superfície
hepatite B, 101
- Aromatizante
óleo de cálamo
em bebidas alcoólicas, 135
- B-asarona
em bebidas alcoólicas, determinação, 135
- Bebidas alcoólicas
aromatizante, 135
- BHC
em peixe, determinação
cromatografia em fase gasosa, 29
- Biomphalaria* sp.
dispersão através de aquários, 89
- Biomphalaria straminea*
Cruzeiro, Vale do Paraíba, S. Paulo,
Brasil, 165
Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil, 89
- Cálamo, óleo
veja Óleo de cálamo
- Carne bovina
resíduos de pesticidas organoclorados, deter-
minação
cromatografia em fase gasosa, 15
- Cascavel
veja *Crotalus durissus terrificus*
- Cobras venenosas
veja Serpentes
- Coloração
tecido hepático
técnica imunocitoquímica, 101
- Crotalus durissus terrificus*, cascavel), 9
- DDT
em peixe, determinação
cromatografia em fase gasosa, 29
- Doença de Chagas
profilaxia, 83
sorodiagnóstico, 83
- Drosophyla melanogaster*
sensibilidade a pesticidas organoclorados, 43
- Equipamento plástico, análise
veja Plásticos, análise
- Escherichia coli* GEI, 107
- Esquistossomíase
São Paulo, Brasil, 89
- Esquistossomose
veja Esquistossomíase
- Fungos
em purê de tomate
contagem de micélios, método de Howard,
23
- Helmintos
associação, em ratos, 159
- Hepatite B
antígeno de superfície, 101
- Infecção cruzada
Escherichia coli GEI, 107
Salmonella sp., 107
Salmonella typhimurium, 77, 107
- Infecção hospitalar
Salmonella typhimurium, 77, 107
- Leishmaniose tegumentar americana
ocorrência, 49
transmissão domiciliar, 49
- Leite
resíduos de pesticidas organoclorados, deter-
minação
cromatografia em fase gasosa, 65
- Leptospirose
serpentes
Brasil, 9
- Mal de Chagas
veja Doença de Chagas
- Manoel de Britto e Silva, necrológico, 75
- Moscas
Drosophyla melanogaster, 43
- Murídeos
parasitismo por helmintos
prevalência, intensidade, 35
veja também Ratos
- Necrológico
Manoel de Britto e Silva, 75

- Nitrato
em alimentos infantis, determinação, 147
- Óleo de cálcio
em bebidas alcoólicas, 135
- Peixe
BHC, DDT, determinação
cromatografia em fase gasosa, 29
- Pesticidas organoclorados, resíduos
BHC, DDT em peixe, determinação
cromatografia em fase gasosa, 29
em carne bovina, determinação
cromatografia em fase gasosa, 15
em leite, determinação
cromatografia em fase gasosa, 65
sensibilidade da mosca *Drosophyla melano-*
gaster, 43
teste biológico em placa de Petri, 43
- Plásticos, análise
equipamento de uso clínico, 55
recipientes de produtos farmacêuticos, 55
- Produtos farmacêuticos
recipientes plásticos de envasamento, aná-
lise, 55
- Purê de tomate
veja Tomate, purê
- Rações animais
aflatoxina B₁, determinação
cromatografia em camada delgada, 153
- Ratos
parasitismo associado
Município de São Paulo, SP, Brasil, 159
parasitismo por helmintos, 159
veja também Murídeos
- Rattus norvegicus*, 35
- Ratus rattus*, 35
- Reservatórios de doença
serpentes, 9
- Salmonella* sp., 77, 107
- Salmonella typhimurium*, 77, 107
biossorotipo lisina descarboxilase negativa,
77
infecção cruzada, 77, 107
infecção hospitalar, 77, 107
surto epidêmico, 77
- Salmonelose, 77, 107
- Salsicha enlatada, análise
relação umidade/proteína, 129
- Schistosoma mansoni*, vetores
Biomphalaria straminea, 89, 165
- Serpentes
infecção por leptospiros, 9
reservatórios de doença, 9
- Surto epidêmico
Salmonella typhimurium
Presidente Prudente, São Paulo, Brasil, 77
- Tomate, purê
fungos, contagem de micélios
método de Howard, 23
controle de qualidade, 23
- Toxoplasmose
prevalência no interior da Bahia, Brasil, 1
- Trichuris trichiura*, ovos (grandes)
Trichuris vulpis, ovos
diagnóstico diferencial, 59
- Trichuris vulpis*, ovos
Trichuris trichiura, ovos (grandes)
diagnóstico diferencial, 59
- Tripanosomíase americana
profilaxia, 83
sorodiagnóstico, 83
- Trypanosoma cruzi*
dosagem de anticorpos, 83
isolamento, 83
- Zoonose
município de São Paulo, SP, Brasil, 35

SUBJECT INDEX

- Actinomycosis in caecal appendix
 anatomoclinic study, 97
- Aflatoxin B₁
 in animal feeds, determination
 thin-layer chromatography, 153
 in foods, determination
 thin-layer chromatography, 153
- Alcoholic beverages
 flavor, 135
- Animal feeds
 aflatoxin B₁, determination
 thin-layer chromatography, 153
- Antigen, surface
 hepatitis B, 101
- Australia antigen
 see Hepatitis B surface antigen
- Baby foods
 nitrate determination, 147
- B-sasarone
 in alcoholic beverages, determination, 135
- BHC
 in fish, determination
 gas-liquid chromatography, 29
- Biomphalaria* sp.
 dispersion through aquaria, 89
- Biomphalaria straminea*
 Cruzeiro, Vale do Paraíba, São Paulo,
 Brazil, 165
 Vale do Ribeira, São Paulo, Brazil, 89
- Calamus oil
 in alcoholic beverages, 135
- Chagas' disease
 prophylaxis, 83
 serodiagnosis, 83
- Cross infection
 Escherichia coli GEI, 107
 Salmonella sp., 107
 Salmonella typhimurium, 77, 107
- Crotalus durissus terrificus*, 9
- DDT
 in fish, determination
 gas-liquid chromatography, 29
- Disease outbreak
 Salmonella typhimurium
 Presidente Prudente, São Paulo, Brazil, 77
- Disease reservoirs
 snakes, 9
- Drosophyla melanogaster*
 sensitivity to organochlorine pesticide resi-
 dues, 43
- Escherichia coli* GEI, 107
- Feeds
 see Animal feeds
- Fish
 BHC, DDT, determination
 gas-liquid chromatography, 29
- Flavor
 calamus oil
 in alcoholic beverages, 135
- Flies
 Drosophyla melanogaster, 43
- Foods
 aflatoxin B₁, determination, 153
- Fungus
 see Mold
- Helminths
 association in rats, 159
- Hepatitis B
 antigen, surface, 101
- Hospital infection
 Salmonella typhimurium, 77, 107
- Infant foods
 nitrate determination, 147
- Leishmaniasis Americana
 domiciliary transmission, 49
 occurrence, 49
- Leishmaniasis, mucocutaneous
 see Leishmaniasis Americana
- Leptospirosis
 snakes
 Brazil, 9
- Manoel de Britto e Silva, necrology, 75
- Meat (beef)
 organochlorine pesticide residues, detection
 gas-liquid chromatography, 15
- Milk
 organochlorine pesticide residues, detection
 gas-liquid chromatography, 65
- Mold (fungus)
 in tomato puree
 Howard's mycelia count method, 23
- Necrology
 Manoel de Britto e Silva, 75

- Nitrate
in baby foods, determination, 147
- Oil, calamus
veja Calamus oil
- Pesticides
organochlorine pesticide residues
BHC, DDT in fish, determination
gas-liquid chromatography, 29
in meat (beef), detection
gas-liquid chromatography, 15
in milk, detection
gas-liquid chromatography, 65
sensitivity of *Drosophyla melanogaster*
biological test, 43
- Pharmaceuticals
plastic countainers, analysis, 55
- Plastics, analysis
equipment, clinical, 55
pharmaceuticals' countainers, 55
- Rats
parasitic association
São Paulo County, SP, Brazil, 159
parasitism by helminths, 35, 159
prevalence, intensity, 35
- Rattus norvegicus*, 35
- Rattus rattus*, 35
- Salmonella* infection, 77, 107
- Salmonella* sp. 77, 107
- Salmonella typhimurium*, 77, 107
bioserotype, negative for lysine decarboxi-
lase, 77
cross infection, 77, 107
disease outbreak, 77
hospital infection, 77, 107
- Sausage (canned), analysis
moisture/protein ratio, 129
- Schistosoma mansoni*, vectors,
Biomphalaria straminea, 89, 165
- Schistosomiasis
São Paulo, Brazil, 89
- Snakes
disease reservoirs, 9
leptospirosis infection, 9
- Staining
tissue, hepatic
immunocitochemical technique, 101
- Tomato puree
mold (fungus)
Howard's mycelia count method, 23
quality control, 23
- Toxoplasmosis
prevalence in Bahia's interland, Brazil, 1
- Trichuris trichiura*, eggs (large)
Trichuris vulpis, eggs
differential diagnosis, 59
- Trichuris vulpis*, eggs
Trichuris trichiura, eggs (large)
differential diagnosis, 59
- Trypanosoma cruzi*
antibody dosage, 83
isolation, 83
- Trypanosomiasis, South American
prophylaxis, 83
serodiagnosis, 83
- Zoonoses
São Paulo County, state of São Paulo,
Brazil, 35