



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 41

NÚMERO 1

JUNHO, 1981



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 CORRÊA, *Presidente*

ELZA SCHWARZ GASTALDO BADOLATO

LUÍS FLORENCIO DE SALLES GOMES

MYRNA SABINO

NEUS PASCUET PREGNOLATTO

ODAIR ZENEBO

PEDRO PAULO CHIEFFI

ROBERTO A. PINTO PAES

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 —

1941-1980, 1-40

1981, 41 (1,

ISSN 0073-9855

RIALA6

CDD₁₈ 614.07205



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

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

REVISTA

DO

INSTITUTO

ADOLFO LUTZ

ISSN 0073-9855
RIALA6

Rev. Inst. Adolfo Lutz, São Paulo, 41(1):1-74, jun. 1981

SUMÁRIO/CONTENTS

- 515 Obtenção de antitoxina perfringens do tipo A em escala industrial
Production of Clostridium perfringens type A antitoxin, on industrial scale
Maria Antonieta da SILVA; Hideyo IIZUKA; Edison Paulo Tavares de OLIVEIRA; Hisako Gondo HIGASHI & Raymundo ROLIM-ROSA .. 1-8
- 516 Níveis de dieldrin em sangue de aplicadores de aldrin na região de São José do Rio Preto, São Paulo
Dieldrin levels in the blood of farm workers applying aldrin, in São José do Rio Preto, state of São Paulo, Brazil
Walkyria H. LARA; Heloisa H.C. BARRETTO & Marileila VARELLA-GARCIA 9-14
- 517 Diretrizes de uma política para a rede de laboratórios de Saúde Pública no Estado de São Paulo
Bases for planning a network of Public Health laboratories for the state of São Paulo, Brazil
Eliseu Alves WALDMAN 15-21
- 518 Avaliação da eficácia do método de Kato-Katz no diagnóstico parasitológico da esquistossomose mansônica
A test of the efficiency of the Kato-Katz thick-smear method for the parasitologic diagnosis of Manson schistosomiasis
Pedro Paulo CHIEFFI; Rubens Murillo MARQUES & José G. Vergetti de SIQUEIRA 23-30
- 519 Contagem de filamentos micelianos em doces em pasta de goiaba, marmelo, pêssego e figo, pelo método de Howard
Mycelia filaments count in fruit jams of guava, quince, peach and fig by Howard method
Claydes de Quadros ZAMBONI; Helena Ide ALVES & Marlene Correia dos SANTOS 31-35
- 520 Isolamento de *Escherichia coli* invasora, em São Paulo, no período de junho de 1978 a dezembro de 1980
Isolation of invasive Escherichia coli in São Paulo City from June 1978 to December 1980
Elena KANO; Ethel Sandoval PEIXOTO; Luiza Maria GONÇALVES; Chifumi Takeuchi CALZADA & Gil Vital Alvares PESSÓA 37-41

521	<p><i>Shigella boydii</i> 9 rápida fermentadora da lactose <i>Isolation of a strain of fast lactose-fermenting Shigella boydii</i> 9 Chifumi Takeucho CALZADA; Elena Kano; Suzel NOGUEIRA; Henry Inácio Zanevan REQUEJO; Luiza Maria GONÇALVES e Gil Vital Álvares PESSÔA</p>	43-46
522	<p>Avaliação do biiodeto de mercúrio como preservativo de material biológico <i>Evaluation of mercury bi-iodide as preservative of biological samples</i> Priscilla Rangel de AGUIAR; Victória Régia VENTURA; Inaiá He- loísa Villares BURKART; João Araújo do NASCIMENTO; Ivete Aparecida Rodrigues de LIMA & Sansão da Rocha WESTPHALEN</p>	47-52
523	<p>Isolamento de três novos sorotipos de <i>Salmonella</i>: <i>S. cotia</i>, <i>S. guarapiranga</i> e <i>S. arizonae</i> de águas de superfície, em São Paulo, Brasil <i>Isolation of three new Salmonella serotypes: S. cotia, S. guarapiranga and</i> <i>S. arizonae 65:l,v:z₃₅, from water reservoirs around São Paulo City, Brazil</i> Kinue IRINO; Gil Vital Álvares PESSÔA; Chifumi Takeuchi CALZADA; Maria Terezinha MARTINS & Petra Sanchez SANCHEZ</p>	53-55
524	<p>Inovação na tela metálica utilizada no preparo de material para exame para- sitológico de fezes através do método de sedimentação em copo <i>Improved sieving of feces for cup sedimentation through use of a metallic sieve</i> Maria Ivani P. Gonçalves da SILVA; Rita Maria da SILVA; Maria Te- rumi YAMANAKA & Lúcia de Lacerda CORRÊA</p>	57-61
525	<p>Óleo de oliva — avaliação de sua qualidade <i>Quality evaluation of olive oil</i> Elza S. Gastaldo BADOLATO; Franca DURANTE; Maria Elisa V. de ALMEIDA & Neusa V. V. SILVEIRA</p>	63-70
526	<p>Enteropatógenos em Santos: inquérito bacteriológico na população diarréica com mais de cinco anos de idade <i>Enteropathogenic bacteria in Santos: a survey in individuals over five-year</i> <i>old with diarrhea</i> Gil Vital Álvares PESSÔA; Kinue IRINO; Elena KANO; Vera Simon- sen & Suzel NOGUEIRA</p>	71-74

AOS COLABORADORES

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

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

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

Os originais deverão ser redigidos na ortografia oficial, apresentados em duas vias (original e primeira cópia), datilografados com duplo entrelinhamento em folhas de papel tamanho ofício (evitando cortar as palavras no final da linha, mesmo que a margem fique irregular), com margens de 3 cm de cada um dos lados e numeradas com algarismos arábicos no ângulo superior direito. As ilustrações e respectivas legendas, e os rodapés serão apresentados à parte.

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

Página de rosto

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

Texto

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

Material de referência

Resumos (em português e em inglês)
Descritores
Referências bibliográficas

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

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

UNIDADES DE MEDIDA E SEUS SÍMBOLOS — Deverão ser usadas somente as unidades legais de medir do sistema nacional de metrologia, definidas em decreto (BRASIL, Leis, decretos, etc. Decreto n. 81.621 de 03 de maio de 1978. *Diário Oficial*, Brasília, 4 mai. 1978. Seção 1, pt. 1, p. 6281-86).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

No texto — Serão citadas por meio de número índice correspondente ao da lista de referências e escritas em versal; assim, para um autor: ... TAUNAY³¹ verificou ...; para dois autores ... LEME & CARRIJO¹⁰, pesquisando ...; para mais de dois autores: ... No trabalho de TSUNODA *et alii*⁶; ou ainda ... segundo vários autores^{1, 5, 7, 8}.

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

Para artigos de periódicos

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

Ex.:

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

Para livros

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

Ex.:

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

DA PUBLICAÇÃO

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

DA DISTRIBUIÇÃO

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

OBTENÇÃO DE ANTITOXINA PERFRINGENS DO TIPO A EM ESCALA INDUSTRIAL *

Maria Antonieta da SILVA **
Hideyo IIZUKA **
Edison Paulo Tavares de OLIVEIRA **
Hisako Gondo HIGASHI **
Raymundo ROLIM-ROSA **

RIALA6/515

SILVA, M.A.; IIZUKA, H.; OLIVEIRA, E.P.T.; HIGASHI, H.G. & ROLIM-ROSA, R.
— Obtenção de antitoxina perfringens do tipo A em escala industrial. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):1-8, 1981.

RESUMO: Descreve-se o método utilizado na preparação da antitoxina perfringica do tipo A, em escala industrial, pela hiperimunização de cavalos, através de antígeno misto, adsorvido pelo alúmen de potássio. Empregando-se esquema de imunização próprio, conseguiu-se obter soro antigangrenoso perfringico tipo A, dosando ao redor de 200 UI/ml, título este que, após a concentração pelo método de Pope, elevou-se ao nível antitóxico de 850 a 1.000 UI/ml. O soro purificado e concentrado foi diluído convenientemente para compor o soro antigangrenoso polivalente.

DESCRITORES: gangrena gasosa; *Clostridium perfringens*, antitoxina tipo A; antígenos bacterianos; cavalos, imunização; soro antigangrenoso perfringico.

1 — INTRODUÇÃO

Clostridium perfringens é o agente etiológico preponderante da gangrena gasosa humana, seguido por *Cl. septicum* e *Cl. oedematiens* ^{2, 3, 21, 22, 26, 33, 35, 36}. Este microrganismo secreta inúmeras toxinas e enzimas dotadas de atividade letal, necrosante, hemolítica, neurotóxica, enzimática e leucoaglutinante. Assim, podem ser identificados pelo menos 13 agentes ou fatores tóxicos, representados pelas letras do alfabeto grego. Sob o ponto de vista da atividade letal e de distintas doenças que causam no homem e em outros animais, são classificados em seis subespécies ou tipos toxigênicos, designados pelas letras maiúsculas do alfabeto latino: A, B, C, D, E e F. Eles apresentam respectiva especificidade imunológica ^{26, 33, 34, 40}. O componente principal deste complexo tóxico e responsável

pela atividade letal é a toxina alfa ²⁶, única que é comum aos seis tipos, estudada por MacFarlane e Knight como sendo um enzima que tem atividade lecitínica, e identificada quimicamente como fosfolipase C ²⁴.

O *Cl. perfringens* do tipo A e do tipo F são responsáveis pela doença humana, sendo este último, causador da toxinfecção alimentar, na forma benigna ².

O *Cl. perfringens* tipo A tem capacidade de produzir alfa toxina em abundância, e constitui normalmente cerca de 50% de *Clostridia* isolada de material clínico ²⁰.

Segundo McLENNAN ²⁶, o índice de mortalidade pela gangrena gasosa era da ordem de 50%, no início da grande guerra, no período de 1940-1942, e, cerca de 30% durante a guerra de 1943, no norte da África, e finalmente, no noroeste europeu, o índice reduziu-se

* Realizado no Setor de Anaeróbios do Instituto Butantan, São Paulo, SP.

** Do Instituto Butantan.

para 22%. A análise desses casos revelou que o índice de mortalidade era significativamente menor entre os pacientes que tinham recebido o tratamento soroterápico, além de outros tratamentos indispensáveis, confirmando assim o valor terapêutico do soro antigangrenoso.

Além dos dados compilados durante as guerras mundiais, inúmeros pesquisadores também têm observado e comprovado a eficiência do soro antigangrenoso^{5, 9, 10, 18, 25, 28, 42}.

Apesar dos avanços da quimioterapia, da antibióticoterapia e mais recentemente da oxigenoterapia hiperbárica^{2, 34, 42} terem conseguido notável conquista no tratamento da gangrena gasosa, o único tratamento antitóxico eficaz é a soroterapia específica^{5, 9, 10, 18, 25, 31}.

A técnica de produção de soro antigangrenoso, pelo Instituto Butantan, foi introduzida em 1938³⁵; nela procedemos inúmeras modificações e aperfeiçoamentos tecnológicos, os quais apresentamos neste trabalho, com o propósito de oferecer subsídios à produção, em escala industrial, do referido antissoro.

2 — MATERIAL E MÉTODOS

2.1 *Estirpe bacteriana* — *Clostridium perfringens* SR-12, selecionada dentre as 47 amostras da espécie *perfringens*, existentes na germoteca do Instituto Butantan, por ser dotada de elevado poder antigênico.

2.2 *Inoculum* — A amostra selecionada sofreu o processo de exaltação da virulência^{23, 35}, pela passagem sucessiva em animais sensíveis como o pombo e cobaio, de cerca de 350g de peso. Quando utilizamos o cobaio, inocula-se pela via intramuscular, inicialmente, cerca de 0,5 ml da suspensão da cultura jovem, desenvolvida no meio de TAROZZI³⁷, no músculo da coxa, com devidas precauções e rigorosa assepsia. A passagem é repetida tantas vezes, até que o volume de 0,1 ml da suspensão bacteriana, resultante da cultura de aproximadamente 5 horas de desenvolvimento, determine a morte do animal inoculado dentro de 24 horas. A amostra de virulência exaltada, colhida da última passagem e semeada em 20 ml do meio de Tarozzi, previamente regenerado, e incubada a 37°C, durante 5 horas, correspondente à fase logarítmica de crescimento, é que constitui o inóculo para o preparo da toxina perfringica.

2.3 *Toxina perfringica tipo A* — A toxina foi preparada no meio de cultura preconizado por WADSWORTH⁴³ modificado.

Para cada partida de toxina, eram preparados 10.000 ml de meio de cultura, apresentando a sua fórmula, a seguinte constituição básica:

Carne de vitela	5.000 g
Peptona (Oxóide)	200 g
Cloreto de sódio	50 g
Acetato de sódio	225 g
Glicerofosfato de sódio	225 g
Glicose a 20%	200 ml
Água	10.000 ml

O meio de cultura é preparado de acordo com a técnica descrita no trabalho anterior³⁶. Ajustado o pH para 7,8 com auxílio de solução de hidróxido de sódio concentrado, a 40%, o meio era dispensado em volumes de 3.000 ml, em frascos Erlenmeyer de 5.000 ml de capacidade, juntamente com cerca de 600 g de carne moída e cozida. Reajustar o pH novamente a 7,8. Após a esterilização, o meio era resfriado bruscamente com água corrente, até a temperatura de aproximadamente 45°C, a fim de garantir a anaerobiose pela eliminação do oxigênio residual³⁵. No momento da semeadura, adicionava-se com esterilidade, a solução de glicose e de acetato glicerofosfato de sódio, previamente preparado separadamente. Após a semeadura de 20 ml do inóculo em cada frasco, eram incubados durante 18 horas, a 37°C, no final da qual, transferiam-se para a geladeira. As amostras eram colhidas de cada frasco, a fim de proceder as provas biológicas e o exame bacterioscópico, para controle de microorganismos não específicos. Os frascos contaminados eram desprezados.

2.3.1 *Titulação da toxina* — As alíquotas de alfa toxina perfringica, colhidas separadamente de cada frasco, e submetidas a ação da força centrífuga equivalente a cerca de 3.000 xg (aceleração gravitacional), a 4°C, durante aproximadamente 30 minutos, até a obtenção de sobrenadante totalmente límpido, eram tituladas em camundongos albinos a fim de determinar a sua atividade em DMM e DL 50, de acordo com a mortalidade verificada em 24 e 48 horas de observação.

2.4 *Anatoxina perfringica* — A toxina perfringica destinada ao preparo da anatoxina perfringica, deve ser altamente imunogênica³⁶, isto é, convém apresentar títulos ao redor de 10² DL 50 em camundongos. A destoxificação da cultura tóxica era realizada mediante a formolização, na concentração final de 0,4%, no produto previamente centrifugado. O processo de destoxificação era completado na estufa, a 37°C, requerendo normalmente incubação por um período de duas a três semanas, acompanhada de agitação constante. Este processo permite a desativação do fator letal da alfa toxina, sem afetar a capacidade imunogênica. A prova de inocuidade de anatoxina era executada pela inoculação de 0,5 ml do produto pela via subcutânea, em camundongos, ou 5 ml de maneira similar em cobaios de 350 gramas de peso. Os animais de prova não devem apresentar sintomas reveladores da ação da toxina perfringica, durante o período de observação de 10 dias.

2.5 *Antígeno para imunização de cavalos* — Para o preparo de antígeno destinado à imunização de cavalos, a toxina era centrifugada a baixa temperatura, e em seguida, precipitada pela solução estéril de 10% de sulfato duplo de alumínio e potássio, sob agitação constante, resultando uma concentração final de 1,25% do adsorvente. A queda do pH do antígeno era corrigido a 5,5 pela adição de

solução concentrada de hidróxido de sódio a 40%. O antígeno, constituído de anatoxina adsorvida, era destinado à imunização de base, isto é, a lote de cavalos novos, enquanto que a toxina adsorvida pelo alumínio era utilizada para hiperimunização de cavalos velhos, isto é, aqueles que já haviam recebido o estímulo primário.

2.6 Preparo do soro antiperfringico — O soro antiperfringico misto, de ação antitóxica e antibacteriana era preparado pela imunização de cavalos selecionados, previamente examinados e identificados pelo Serviço de Veterinária, vacinados contra tétano e garrotilho. A imunização era realizada em duas fases, visando melhor rendimento de soro e ausência de reações indesejáveis no animal soroprodutor.

2.6.1 Imunização de base — Na primeira fase de imunização, os cavalos novos^{3, 44} recebiam o estímulo primário provocado pela inoculação de anatoxina alfa perfringica. Principiava-se com a administração de antígeno, em pequenas doses diárias, progressivamente crescentes, de acordo com o esquema de imunização estabelecido em trabalhos anteriores^{19, 30}. A sangria exploradora de cada cavalo era realizada sete dias após a inoculação da última dose de antígeno. Os animais com resposta antigénica satisfatória, isto é, aqueles que apresentavam teor de antitoxina ao redor de 100 UI/ml, eram sangrados na proporção de 5% do seu peso corporal, divididos em três vezes, com intervalo de 48 horas entre uma sangria e outra. A seguir, os animais entravam em fase de recuperação, durante o espaço de tempo de 30 a 45 dias¹.

2.6.2 Hiperimunização — Nesta fase, cada cavalo recebia antígeno misto, constituído de toxina contendo suspensão bacteriana, cuja concentração estava controlada pelo processo de centrifugação, a baixa temperatura. A administração deste antígeno também era feita em doses fracionadas e progressivamente crescente de duas injeções semanais, durante o período de quatro semanas^{19, 30}. Todos os equídeos que demonstrassem resposta antigénica satisfatória eram separados e sangrados. As reimmunizações eram sistematicamente repetidas após os períodos de sangria e de repouso do animal.

O sangue era recebido em solução anticoagulante de citrato de sódio, sendo imediatamente a seguir, submetido a centrifugação em uma desnatadeira para a separação do plasma, e adicionava-se fenol, na concentração final de 0,4%. O volume de plasma resultante, mantido em recipiente de vidro, estéril, era conservado em câmara fria a 4°C, até o momento de ser submetido a concentração e purificação, operação esta efetuada de acordo com o método de POPE^{14, 32}.

O doseamento do teor de antitoxina perfringica tipo A, das amostras de mistura de plasma obtidas após a hiperimunização de equídeos, era realizado em camundongos, se-

gundo a técnica preconizada pelo "National Institute of Health, USA"³⁹, e traduzida em UI (Unidade Internacional), usando como padrão de referência, o Soro Antigangrenoso Perfringico tipo A, padrão internacional, da Organização Mundial de Saúde.

Finalmente, o soro antigangrenoso perfringico purificado era novamente titulado e acertado frente a antitoxina padrão internacional, a fim de conter 300 UI/ml do tipo A, quando, evidentemente se tratasse de soro monovalente. O soro antigangrenoso polivalente purificado, deve apresentar como potência mínima, as seguintes capacidades antitóxicas por mililitro do produto: antitoxina perfringens, 100 UI, antitoxina septicum, 100 UI, e antitoxina oedematiens, 150 UI, respectivamente¹¹.

2.7 Soro e toxina padrões

2.7.1 Soro padrão — O soro antiperfringico tipo A, padrão internacional, era proveniente do Statens Serum Institute, da Organização Mundial de Saúde, Copenhagen, sendo recebido, sob forma liofilizada, em ampolas contendo 90,35 mg de antitoxina perfringica, equivalente a 270 UI⁴⁵. Portanto, uma unidade internacional do atual padrão é a atividade específica que está encerrada em 0,3346 mg de antitoxina equina hiperimmune liofilizada. O solvente do soro padrão é constituído de mistura de duas partes de glicerina bidestilada neutra e de uma parte de solução fisiológica estéril, a 0,85% de NaCl, PA.

2.7.2 Toxina perfringica padrão tipo A — A toxina padrão foi preparada no laboratório, e padronizada ao nível de 1 L+ (Limite morte), frente ao soro padrão internacional antiperfringico tipo A. O Limite morte da toxina perfringica tipo A é a menor quantidade desta toxina que, misturada a 1/5 de unidade antitóxica do soro padrão internacional, provoca a morte de, pelo menos, 50% do lote de camundongos de 17-20 g de peso, inoculados pela via intravenosa, em 48 horas de observação^{11, 39}.

A toxina padrão deve ser conservada em estado seco e pulverizado, a vácuo, em dessecador, em atmosfera contínua de pentóxido de fósforo ou de cloreto de cálcio, a temperatura de 4°C. Ela deve apresentar título estável e elevado, e conter quantidade mínima de teta toxina perfringica³⁹.

O solvente da toxina padrão é a solução de proteose peptona a 1%⁴³, e o diluente para todos os ensaios biológicos é a solução fisiológica, a 0,85% de NaCl, PA, esterilizada em autoclave.

2.8 Animais de laboratório — Os camundongos albinos de 17-20 g, e os cobaias de 350 g de peso, utilizados, sem distinção de plasma obtidas após a hiperimunização de Instituto Butantan.

3 — RESULTADOS E DISCUSSÃO

O *Clostridium perfringens* é um bacilo cosmopolita e largamente distribuído na natureza, estando presente em quase todos os tipos de ambiente. Além de ser habitante normal do intestino do homem e da maioria dos animais, é encontrado no solo, nas poeiras, nas vestimentas, na pele etc., motivo pelo qual pode contaminar facilmente qualquer fermento. Os fermentos profundos, principalmente aqueles causadores de lesões dilacerantes dos músculos, favorecem o desenvolvimento da gangrena gasosa^{3, 26}.

O soro antigangrenoso é utilizado em tratamentos tanto preventivo quanto curativo, de fermentos daquela natureza. A soroterapia antigangrenosa é o único agente capaz de neutralizar a letal exotoxina secretada pelos germens da gangrena gasosa.

O processo atual de obtenção de soro antigangrenoso, em escala industrial, é o resultado de inúmeros ensaios tecnológicos realizados em nosso laboratório, permitindo o estabelecimento de condições ideais para a obtenção de toxina perfringica tipo A, e de antígenos para a imunização de cavalos.

Uma das causas primordiais, que mais afeta o preparo de antígeno eficaz, dotado de alta imunogenicidade, destinado à obtenção de soros com bons títulos, é a baixa taxa de produção de alfa toxina pelo *Cl. perfringens*^{23, 35}.

MÖLBY e col.²⁷ fazendo estudo comparativo entre as diversas amostras de *Cl. perfringens* procedentes do ATCC e do NCTC (American Type Culture Collection, USA, e National Collection of Type Culture, London, respectivamente), verificaram que a taxa de produção de exotoxinas letais depende das características de crescimento dos germens, inerentes às propriedades associadas intrinsecamente a determinadas estirpes bacterianas. Em condições ótimas de pH, obtiveram toxina perfringica tipo A, cuja toxicidade oscilava entre os valores de 2 a 50 DL/50 por mililitro, para camundongos. Percebe-se logo, que nem todas as amostras de *Cl. perfringens* são capazes de sintetizar proteínas extracelulares de elevado teor tóxico. A escolha da estirpe certa, além de condições culturais adequadas, representa fator de grande importância no rendimento final das exotoxinas.

No presente trabalho também foram observadas grandes variações toxigênicas entre as diversas amostras estudadas. Preliminarmente, foram selecionadas quatro cepas, indenticadas pelos n.º IB-12, SR-12, IB-23 e IB-39, respectivamente, as quais revelaram ser amostras toxigênicas em camundongos, dosando ao redor de 40 DL50/ml, após algumas passagens prévias de exaltação de virulência em cobaias. Em ensaios posteriores, as cepas SR-12 e IB-23 apresentaram maior toxigenicidade, pois determinaram a morte de cobaias num período inferior a 24 horas, quando inoculadas pela via intramuscular, no volume de 0,1 ml de suspensão da cultura de

seis horas de desenvolvimento em meio de Tarozzi. A toxina obtida dessas culturas dosou ao redor de 100 DL50/ml para camundongos. Por este motivo a estirpe SR-12 foi escolhida para a produção de toxina perfringica tipo A, ficando a IB-23 reservada para eventuais necessidades.

Inicialmente, nas primeiras passagens, exigia-se tempo de incubação mais longo e maior volume de suspensão de cultura — cerca de 1,0 ml — e a ocorrência da morte do animal, mesmo nessas condições, poderia ultrapassar o período de 24 horas.

A maioria dos autores admite que a adição de glicose ao meio de cultura, como fonte de carboidrato, é indispensável, a fim de se obter boa toxigênese de *Cl. perfringens* tipo A. Todavia, a taxa desse açúcar tem sido experimentada em diferentes concentrações: de 0,1%^{15, 16}, 0,5%^{4, 29} e de 0,2 a 2%⁴¹. Nas condições do nosso experimento, a taxa ideal foi de 0,4%. Por outro lado, meios de cultura muito rico em glicose constitui uma das causas que determina a inibição da toxigênese^{36, 41}.

A temperatura de incubação é outra condição relevante na produção de toxina, e que tem sido provado em várias experiências anteriores de 31 a 45°C^{4, 6, 23, 27, 29, 35}. Obtivemos resultados satisfatórios a 37°C, incubando durante um período de 18 horas, quando ocorria a máxima produção de exotoxina.

A suplementação de fatores de crescimento e de principais vitaminas ao meio de cultura, sempre estimula a síntese de exotoxina perfringica, e esta condição se torna indispensável quando se trata de meio de cultura sintético, além da adição de 13 aminoácidos essenciais, em sua forma levógira^{4, 23, 31}.

Para o preparo de antígeno, utilizamos toxinas que dosavam ao redor de 100DL50/ml. Mas por outro lado, vários pesquisadores têm obtido bons resultados, empregando toxina perfringica menos potente, cujos títulos oscilavam entre os valores de 10 a a 60 DMM^{15, 16, 35, 38}.

O sulfato duplo de alumínio e potássio foi utilizado como adjuvante, por ser o mais empregado na adsorção de antígeno destinado a hiperimunização de cavalos^{1, 3, 19, 30, 35, 38}, embora outros tenham também encontrado resultados com lanolina^{3, 15, 44}.

A infecção gangrenosa pelo *Clostridium perfringens* caracteriza-se pela exuberante reprodução bacteriana e pelo seu alto poder invasor razões pelas quais o soro antigangrenoso perfringico deve ter ação mista, isto é, antibacteriana e antitóxica^{12, 13, 35}. Porém, muitos autores enfrentaram sérios obstáculos quando empregaram antígeno misto, constituído de toxina e suspensão bacteriana, para a imunização de cavalos. Os problemas mais difíceis são aqueles provocados pelas reações indesejáveis do antígeno, impossibilitando o uso deste tipo de imunógeno, inclusive devido a alta taxa de mortalidade de cavalos^{12, 13, 33, 35, 36}, superior a 30%³.

SOUTO & RIVAROLA³⁵ contornaram este problema pelo emprego de anatoxina filtrada, neutralizada pela adição de soro antigangrenoso polivalente, no início da imunização.

No presente trabalho, estes inconvenientes foram contornados pela utilização do antígeno inócuo, isto é, destoxificado e adsorvido pelo alúmen de potássio, PA, na fase inicial de imunização. Em seguida, na fase de hiperimunização propriamente dita, era empregado antígeno constituído de toxina mais suspensão bacteriana virulenta, precipitadas pelo alúmen. Os cavalos submetidos ao processo, suportavam normalmente esta forma de antígeno, pois já tinham adquirido imunidade suficiente na fase inicial. Devido à coexistência de dois imunógenos, o microbiano e o tóxico, a síntese de antissoros de atividades antimicrobiana e antitóxica perfringica tipo A, processava-se satisfatoriamente.

O emprego de cavalos jovens é outro fator muito importante para obtenção constante de antitoxina de elevado título^{3, 44}.

YAMAMOTO e col.⁴⁶, ao estudarem vários tipos de antígenos gangrenosos para produção de soro antigangrenoso perfringico tipo A, verificaram que em condições naturais, somente uma proporção de cerca de 10% dos animais revelam ser bons produtores de antitoxina. Este fenômeno é explicado pela existência prévia de imunidade potencial¹, isto é de anticorpos naturais circulantes antigangrenoso naturalmente adquiridos. Esta condição imunitária ideal pode ser artificialmente induzida em cavalos novos, aplicando-se doses de antígeno, em lotes de animais destinados à produção de soros, antes de iniciar a hiperimunização propriamente dita.

SOUTO & FURLANETTO³⁶ verificaram que os soros antigangrenosos encontrados no mercado nacional, resultante da pesquisa realizada

durante um período de três anos, apesar da progressiva melhoria dos títulos antitóxicos relativos à capacidade terapêutica e profilática, o teor de antitoxina perfringica oscilava entre os valores de menos de cinco até cerca de 50 UI/ml. Somente duas amostras exibiram títulos iguais a 100 UI/ml.

SOUTO & RIVAROLA³⁵ enfatizam que a resposta antgênica de cada animal é muito variável. Os animais imunizados produziram soro hiperimune cujos títulos oscilavam ao redor de 100 UI/ml. GUILLAUMIE e col.¹⁷ obtiveram títulos antitóxicos que variavam entre os valores de 35 a 400 UI/ml, "in vivo"; e quando dosaram as mesmas amostras pelo método "in vitro", encontraram resultados que iam de 20 a 4000 UI, em título antihemolítico, e concluíram dessa maneira da inexistência de correlação entre estes dois métodos de dosagens. BITTNER e col.³, utilizando cavalos jovens de dois a três anos de idade, com esquema de imunização próprio, e antígeno precipitado pelo alúmen de potássio, conseguiram obter teor de antitoxina perfringica circulante ao redor de 200 a 300 UI/ml, porém o método de dosagem utilizado foi "in vitro".

Utilizando o esquema de imunização elaborado em nosso laboratório^{19, 30}, foi obtida antitoxina perfringica tipo A, dosando ao redor de 200 UI/ml (tabela), que após a purificação e concentração pela digestão enzimática associado ao processo de termocoagulação proteica, seguida de precipitação fracionada pelo sulfato de amônio e diálise¹⁴, atingia níveis de 850 a 1000 UI/ml. Este soro, purificado e concentrado era finalmente diluído para apresentar 100 UI/ml de antitoxina perfringica tipo A, para compor o Soro antigangrenoso polivalente, e 300 UI/ml, quando se tratar de Soro antigangrenoso específico monovalente¹¹.

TABELA

Níveis de antitoxina perfringica, observados em quatro cavalos, no decurso de cinco hiperimunizações

Cavalos n.º	Títulos em UI/ml					Média aritmética UI/ml
	Hiperimunização					
	1.ª	2.ª	3.ª	4.ª	5.ª	
190	150	200	250	250	200	210
325	140	250	200	250	150	198
400	220	150	140	150	180	168
438	150	180	250	300	300	236

4 — CONCLUSÕES

4.1 Utilizando-se *Clostridium perfringens* tipo A, estirpe SR-12, foi preparada toxina perfringica dosando cerca de 100 DL50/ml em camundongos.

4.2 O antígeno perfringico empregado na hiperimunização de cavalos era constituído de toxina e de suspensão bacteriana, portanto induzia a síntese de antitoxina dotada de atividade antibacteriana e de antitóxica.

4.3 O soro antigangrenoso perfringico apresentou título antitóxico da ordem de 200 UI de antitoxina perfringica tipo A por mililitro nas sangrias de prova.

4.4 A mistura de plasma resultante de várias hiperimunizações permitiu a obtenção de uma antitoxina purificada e concentrada, cujo título atingiu níveis da ordem de 850 a 1000 UI/ml, a qual foi convenientemente diluída para obtenção de soro antigangrenoso polivalente para fins terapêuticos.

RIALA6/515

SILVA, M.A.; IIZUKA, H.; OLIVEIRA, E.P.T.; HIGASHI, H.G. & ROLIM ROSA, R.
— Production of *Clostridium perfringens* type A antitoxin, on industrial scale.
Rev. Inst. Adolfo Lutz, 41(1):1-8, 1981.

ABSTRACT: A method is described for the preparation of *Clostridium perfringens* type A antitoxin, on industrial scale, by the hyperimmunization of horses with mixed alum-adsorbed antigen. With the use of the immunization method idealized in laboratory of Instituto Butantan, São Paulo, an antigangrenous *Cl. perfringens* type A antitoxin was obtained with a dosage of about 200 IU/ml, a titre that after concentration by Pope's method, increased to antitoxic levels of 850 to 1.000 IU/ml. The purified and concentrated antitoxin was conveniently diluted to constitute a polyvalent gas gangrene antitoxin.

DESCRIPTORS: gas gangrene; *Clostridium perfringens* type A antitoxin; antigens, bacterial; horses, immunization; antitoxins, gas gangrene *C. perfringens*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARR, M. & GLENNY, A.T. — Some practical applications of immunological principles. *J. Hyg., Camb.*, 44:135-42, 1945.
2. BIER, O.G. — *Bacteriologia e imunologia e suas aplicações à medicina e higiene*. 18.^a ed. São Paulo, Melhoramentos, 1977.
3. BITTNER, J.; OLARU, A.; POP, A.; POTORAC, E.; VOINESCO, V.; FICIU, E. & OPRISAN, R. — Hyperimmunisation tétravalente des chevaux producteurs de sérum antigangréneux. I. Hyperimmunisation successive. *Arch. roum. Path. exp. Microbiol.*, 23:253-60, 1964.
4. BITTNER, J.; STAVRI, D. & FICIU, S. — Méthode simple pour l'obtention constante d'une alpha-toxine perfringens a titre élevé. II. Rôle de la combinaison de glucides et de la température d'incubation. *Arch. roum. Path. exp. Microbiol.*, 23: 1037-44, 1964.
5. BITTNER, J.; ANDERLEANU, J. & CHERCIU, I. — Traitement complexe de la gangrène gazeuse. V. Effic du sérum antigangréneux polyvalent sur l'infection tétravalente du cobaye, réalisée d'après un modèle expérimental propre. *Arch. roum. Path. exp. Microbiol.*, 30:45-57, 1971.
6. BOYD, M.J.; LOGAN, M.A. & TYTELL, A.A. — The growth requirements of *Clostridium perfringens* (Welchii) BP6K. *J. biol. Chem.*, 174:1013-25, 1948.
7. BUCHANAN, R.E. & GIBBONS, N.E. — *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 8th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1974.
8. BURROWS, W.; MOULDER, J. W. & LEWERT, R.M. — *Tratado de Microbiologia*. 18 ed. Mexico, Edit. Interamericana, 1965. p.
9. EVANS, D.G. — The protective properties of the alpha antitoxin and antihyaluronidase occurring in *Cl. welchii* type A antiserum. *J. Path. Bact.*, 55:427-34, 1943.
10. EVANS, D.G. — The treatment with antitoxin of experimental gas gangrene produced in guinea-pigs by (a) *Cl. welchii*, (b) *Cl. oedematiens* and (c) *Cl. septicum*. *Brit. J. exp. Path.*, 26:104-11, 1945.
11. FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil; oficializada pelo Governo Federal pelo Decreto n.º 45.502 de 27 de fevereiro de 1959. 2.^a ed. São Paulo, Siqueira, 1959.

12. FREDETTE, V. & FRAPPIER, A. — Recherches sur l'immunité dans la gangrène gazeuse. I. Valeur comparative des sérums antiperfringens de type antitoxique et de type mixte antitoxique-antibactérien. *Rev. canad. Biol.*, 5:436-41, 1946.
13. FREDETTE, V. & FRAPPIER, A. — Recherches sur l'immunité dans la gangrène gazeuse. II. Action déchaînant de filtrats non-toxiques de cultures de *Clostridium perfringens* dans la gangrène gazeuse expérimentale. *Rev. canad. Biol.*, 5:428-35, 1946.
14. FURLANETTO, R.S. — *Estudos sobre a preparação do soro antiloxoscélico*. São Paulo, 1961. p. 64-5. [Tese — Faculdade de Farmácia e Odontologia da Universidade de São Paulo]
15. GUILLAUMIE, M. — Détermination du titre antitoxique des sérums anti-perfringens A, anti-vibrien septique, anti-histolytique et anti-oedematiens. Préparation, titrage et propriétés des toxines correspondantes. Contribution à l'étude de la toxine du Bac. perfringens. A. *Ann. Inst. Pasteur, Paris*, 66:204-47, 1941.
16. GUILLAUMIE, M. — Détermination du titre antitoxique des sérums anti-perfringens A, anti-vibriens septiques, anti-histolytiques et anti-oedematiens. Préparation, titrage et propriétés des toxines correspondantes. Contribution à l'étude de la toxine de Bac. perfringens A. Toxigenèse dans différents milieux. *Ann. Inst. Pasteur*, 66:329-78, 1941.
17. GUILLAUMIE, M.; KREGUER, A. & FABRE, M. — Propriétés et composition de la toxine de *Welchia perfringens*. I. Action hémolytique. *Ann. Inst. Pasteur*, 72:12-37, 1946.
18. HANSA, W.R. & BURNEY Jr., D.W. — Gas gangrene infection: combined treatment including 3.432.000 International Units of polyvalent gas gangrene antitoxin. *Nebraska med. J.*, 51:85-9, 1966.
19. HIGASHI, H.G.; IIZUKA, H.; OLIVEIRA, E.P.T. & SILVA, M.A. — Preparação do soro antituberculínico tipo B, pela hiperimunização de cavalos, no Instituto Butantan. *Mem. Inst. Butantan*, 42/43:77-85, 1978/79.
20. HOLDEMAN, L.V. & MOORE, W.E.C. — *Anaerobe Laboratory manual*. 3rd. ed. Blacksburg, Va., Virginia Polytechnic Institute/State University, 1975.
21. ITO, A. — Alpha toxoid of *Clostridium perfringens*. II. Immunogenicity of the toxoid. *Jap. J. med. Sci. Biol.*, 23:21-30, 1970.
22. LARCAN, A.; LAPREVOTE-HEULLY, M.C. & LAMBERT, H. — La gangrène gazeuse. Aspects étiologiques, cliniques et thérapeutiques d'actualité. *Nouv. Presse méd.*, 3:2493-6, 1974.
23. LOGAN, M.A.; TYTELL, A.A.; DANIELSON, I.S. & GRINER, A.M. — Production of *Clostridium perfringens* alpha toxin. *J. Immunol.*, 51:317-28, 1945.
24. MACFARLANE, M.G. & KNIGHT, B.C.J.G. — The biochemistry of bacterial toxins. I. The lecithinase activity of *Cl. welchii* toxins. *Biochem. J.*, 35:884-902, 1941.
25. MACFARLANE, M.G. — The therapeutic value of gas-gangrene antitoxin. *Brit. med. J.*, 2:636-40, 1943.
26. MACLENNAN, J.D. — The histotoxic clostridial infections of man. *Bacteriol. Rev.*, 26:177-276, 1962.
27. MÖLLBY, R.; HOLME, T.; NORD, C.E.; SMYTH, C.J. & WADSTRÖM, T. — Production of phospholipase C (alpha-toxin), haemolysis and lethal toxins by *Clostridium perfringens* types A to D. *J. gen. Microbiol.*, 96:137-44, 1976.
28. NAGLER, F.P.O. — Treatment of experimental gas gangrene due to *Clostridium welchii* with penicillin and antitoxin. *Brit. J. exp. Path.*, 26:57-63, 1945.
29. NORD, C.E.; MÖLLBY, R.; SMYTH, C. & WADSTRÖM, T. — Formation of phospholipase C and theta-haemolysin in pre-reduced media in batch and continuous culture of *Clostridium perfringens* type A. *J. gen. Microbiol.*, 84:117-27, 1974.
30. OLIVEIRA, E.P.T. — Estudos sobre a preparação do soro antituberculínico tipo A. *Mem. Inst. Butantan*, 36:1-40, 1972.
31. OWEN-SMITH, M.S. — Antibiotics and antitoxin therapy in the prophylaxis of experimental gas gangrene. *Brit. J. Surg.*, 55:43-5, 1968.
32. POPE, G. — Disaggregation of proteins by enzymes. *Brit. J. exp. Path.*, 19:245-51, 1938.
33. PREVOT, A.R. — *Biologie de maladies dues aux anaérobies*. Paris, Flammarion, 1955. p. 227-318.
34. REY CALERO, J. — *Microbiologia e immunobiologia de las enfermedades infecciosas*. Madrid, Marban, 1976. p. 359-72.
35. SOUTO, A.B. & RIVAROLA, J.B. — Preparación del suero antigangrenoso. I. Preparación del suero antiperfringens. *Mem. Inst. Butantan*, 12:393-433, 1938/39.
36. SOUTO, A.B. & FURLANETTO, R.S. — Investigação sobre o conteúdo de antitoxina do soro antigangrenoso. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 5:353-74, 1945.
37. TAROZZI, G. — Osservazioni sulla natura dei fenomeni che determinano la esigenza anaerobia nella culture dei germe anaerobia. *Atti Accad. Fisiocr.*, Siena, 17:1901-7, 1907.

38. TYTELL, A.A.; LOGAN, M.A.; TYTELL, A.G. & TEPPER, J. — Immunization of humans and animals with gas gangrene toxoids. *J. Immunol.*, 55:233-44, 1947.
39. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH, EDUCATION AND WELFARE. National Institutes of Health. *Minimum requirements: Gas gangrene group of antitoxins*. Bethesda, Maryland, 1947.
40. VAN HEYNINGEN, W.E. — *Bacterial toxins*. Oxford, Blackwell, 1950. p. 23-42.
41. VINET, G.; FORGET, A. & FREDETTE, V. — Influence du glucose sur la formation du facteur déchainant et de la toxine par *Welchia perfringens* type A en bouillon VF. *Ann. Inst. Pasteur, Paris*, 97:237-41, 1959.
42. VIRENQUE, Ch. — Traitement de la gangrène gazeuse. *Ann. Anesthesiol. franç.*, 16:1-4, 1975.
43. WADSWORTH, A.B. — *Standard methods of the Division of Laboratories and Research of the New York State Department of Health*. 3rd ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1947.
44. WEINBERG, M. & GUILLAUMIE, M. — Obtention rapide, avec des antigènes englobés dans la lanoline, de sérums anti-gangréneux de titre antitoxique très élevé. *C. r. Séanc. Soc. Biol.*, 124:518-21, 1937.
45. WORLD HEALTH ORGANIZATION — Expert Committee on Biological Standardization. Genève, 1971. Tech. rep. ser. 463.
46. YAMAMOTO, A.; ITO, A.; MURATA, R.; UEMATSU, N.; NAGAI, K. & MINOMO, K. — Hyperimmunization of horses with alpha toxoid of *Clostridium perfringens*. *Jap. J. med. Sci. Biol.*, 23:111-5, 1970.

Recebido para publicação em 15 de setembro de 1980.

NÍVEIS DE DIELDRIN EM SANGUE DE APLICADORES DE ALDRIN NA REGIÃO DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO, SÃO PAULO *

Walkyria H. LARA **
Heloisa H.C. BARRETTO **
Marileila VARELLA-GARCIA ***

RIALA6/516

LARA, W.H.; BARRETTO, H.H.C. & VARELLA-GARCIA, M. — Níveis de dieldrin em sangue de aplicadores de aldrin na região de São José do Rio Preto, São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):9-14, 1981.

RESUMO: Foram determinados os níveis de dieldrin no sangue de 18 lavradores profissionalmente expostos ao aldrin, tendo sido encontrados valores muito elevados (média = 0,49 µg/ml; desvio padrão 0,36 ppm), acima dos citados na literatura em casos de intoxicação. Não pôde ser detectada correlação entre o nível sanguíneo de dieldrin e o tempo de exposição ao aldrin, o intervalo entre a exposição e a coleta do sangue, a quantidade do composto empregado ou a natureza da exposição. O grau de contaminação detectado, decorrente principalmente da manipulação imprudente do pesticida, enfatiza a necessidade de medidas mais efetivas na conscientização dos aplicadores de aldrin com relação ao risco assumido, e de fiscalização pelos órgãos responsáveis.

DESCRITORES: dieldrin, níveis em sangue de aplicadores de aldrin; pesticidas, resíduos; inseticidas organoclorados, aldrin, dieldrin; doença ocupacional, contaminação por exposição ao aldrin.

INTRODUÇÃO

O suprimento adequado de alimento à população mundial e o controle e erradicação de doenças, cujos vetores são insetos, tornam inquestionável a utilização dos inseticidas, em nossos dias. Muitos pesticidas são, contudo, substâncias altamente tóxicas ou deletérias para os animais, especialmente o homem, e causam sérios prejuízos ao equilíbrio do ambiente. A persistência de certos compostos, como por exemplo os inseticidas organoclorados e seus metabolitos, se por um lado é altamente conveniente para os objetivos relacionados com a produção agrícola ou a saúde pública, por outro lado tem trazido problemas complexos de contaminação ambiental.

A toxicidade crônica desses compostos reveste-se de interesse principalmente para os consumidores de produtos agrícolas contaminados com níveis de resíduos acima das tolerâncias estabelecidas. Tal situação pode ser demonstrada com a detecção de resíduos de organoclorados (DDT, DDE, dieldrin) no sangue ou em outros tecidos de indivíduos da população geral, sem exposição profissional a esses produtos^{3, 9, 10, 11, 12, 14}.

A principal causa da contaminação do homem por pesticidas, entretanto, é a sua manipulação inadequada ou abusiva e nesse caso os problemas de toxicidade aguda devem recair, mais acentuada e rapidamente, sobre os encarregados da sua produção, formulação ou aplicação. Nos países desenvolvidos, onde o uso

* Realizado na Seção de Aditivos e Pesticidas Residuais do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP e no Departamento de Biologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, UNESP, São José do Rio Preto, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, São Paulo.

de pesticidas atinge níveis bastante elevados, os casos de intoxicação são raros⁶. HAYES & CURLEY⁵, analisando 28 indivíduos ocupacionalmente expostos ao aldrin e dieldrin por pelo menos 19 anos, nos EUA, encontraram uma média de 0,0247 µg/ml de dieldrin no sangue e 6,12 µg/ml no tecido adiposo. Esses valores são inferiores à faixa limite (no sangue: 0,15-0,20 µg/ml), abaixo da qual não há sinais ou sintomas de intoxicação².

No Brasil, como em outros países em vias de desenvolvimento, os casos de intoxicação de aplicadores por pesticidas são relativamente freqüentes, porque as normas de controle de uso desses compostos são menos rígidas e menos efetivas e estes são manejados por pessoas sem conhecimentos especializados. Atualmente alguns órgãos oficiais, como a Divisão de Defesa Sanitária Vegetal do Ministério da Agricultura, vêm procurando minimizar os efeitos negativos decorrentes de uma má utilização dos pesticidas, através de campanhas educativas e de uma fiscalização mais eficiente.

O nível do pesticida no sangue é um parâmetro que permite avaliar a entrada total da droga e a concentração estável da mesma no organismo humano¹⁰. Este trabalho apresenta os resultados de uma investigação sobre os níveis sanguíneos de dieldrin em aplicadores de aldrin, e discute alguns fatores que afetam o nível de exposição e a sintomatologia da intoxicação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 18 lavradores da região de São José do Rio Preto, SP, de nível sócio-cultural representativo da população de lavradores desta região, profissionalmente envolvidos na aplicação de Aldrin 40 TS* em culturas de arroz, milho e amendoim. As idades variavam de 19 a 43 anos (média = 32,6; desvio padrão = 9,5) e a distribuição racial era de 16 caucasóides e 2 negróides. Esses indivíduos foram selecionados, antes da aplicação, por não terem tido contacto com qualquer pesticida nos últimos 11 meses. Nessa ocasião foi colhida a primeira amostra de sangue (amostra A). Após a aplicação do aldrin, em um período variável de 12 a 84 horas, foi feita a coleta de nova amostra (amostra B) e anotados dados referentes a sinais e sintomas clínicos de intoxicação, equipamentos de proteção utilizados e cuidados na manipulação e aplicação. Extraído o soro sanguíneo, este era congelado e encaminhado ao Instituto Adolfo Lutz para determinação de resíduos de organoclorados, num intervalo de tempo de no máximo três horas.

O método de análise empregado foi o de DALE & MILES⁴, que consiste no seguinte:

Em um tubo de ensaio colocar 1 ml de soro, mais 1 ml de ácido fórmico. Agitar durante um minuto, com bastão de vidro. Adicionar 5 ml de hexana. Agitar novamente por um minuto. Retirar a camada de hexana, passando para um segundo tubo de ensaio. Tornar a extrair no primeiro tubo com mais 5 ml de hexana. Retirar a camada de hexana e reunir ao primeiro extrato. Se necessário, usar pipeta Pasteur para retirar o final da hexana. Colocar 1 ml de carbonato de potássio no segundo tubo de ensaio com a hexana e agitar durante um minuto. Retirar a hexana, passando para um terceiro tubo de ensaio e, novamente, se necessário, usar a pipeta Pasteur. Secar com corrente de nitrogênio. Elevar a 1 ml, com hexana, e injetar 3 µl no cromatógrafo.

Para a cromatografia foi utilizado um aparelho Varian Aerograph 2.100-00, com coluna de vidro em U, de 1/4 de polegada de diâmetro interno, 6 pés de comprimento, com fase estacionária com 2% de OV17 em Chromosorb W 100-120 "mesh", com as seguintes condições de otimização:

Temperatura da coluna = 170°C

Temperatura do detector = 200°C

Temperatura do injetor = 200°C

Fluxo do nitrogênio = 40 ml/min

A identificação dos picos encontrados nos cromatogramas foi feita pela comparação das distâncias de retenção com padrões submetidos às mesmas condições de análise e a determinação quantitativa foi feita pela comparação das áreas dos picos.

RESULTADOS

Devido à rápida epoxidação do aldrin em dieldrin no fígado, somente resíduos de dieldrin foram encontrados no soro sanguíneo. A análise dos indivíduos por ocasião da colheita da amostra A não detectou resíduos de dieldrin, conforme podíamos esperar, considerando que a meia-vida do dieldrin no sangue é de 0,73 anos⁶. Na amostra B foram detectados os valores apresentados na tabela 1. Esta tabela mostra, ainda, para cada indivíduo, o tempo de exposição ao inseticida, o intervalo entre a exposição e a coleta do sangue, a quantidade empregada de aldrin e a natureza do contacto. O nível sanguíneo de dieldrin variou de 0,05 µg/ml a 1,77 µg/ml e o tempo de exposição direta ao aldrin foi de 8 a 32 horas. Treze indivíduos acusaram contacto através das vias de absorção respiratória e dérmica, enquanto cinco informaram misturar o aldrin e as sementes com auxílio de ferramentas.

* Da Shell Química S.A.

LARA, W.H.; BARRETTO, H.H.C. & VARELLA-GARCIA, M. — Níveis de dieldrin em sangue de aplicadores de aldrin na região de São José do Rio Preto, São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1): 9-14, 1981.

TABELA 1

Níveis de dieldrin no sangue de aplicadores de aldrin, tempo de exposição, intervalo entre a exposição e a coleta do sangue, quantidade empregada do pesticida e natureza da exposição em 18 indivíduos profissionalmente expostos ao aldrin

Indivíduo n.º	Nível sangüíneo de dieldrin ($\mu\text{g/ml}$)	Tempo de exposição (h)	Intervalo exposição coleta (h)	Quantidade empregada (kg)	Natureza da exposição	
					Respiratória	Dérmica
1	0,62	32	36	4	+	+
2	0,47	32	36	4	+	+
3	1,37	16	12	2	+	+
4	1,07	14	12	2	+	+
5	0,08	16	84	0,5	+	—
6	0,05	16	84	0,5	+	—
7	0,23	12	36	2	+	—
8	0,62	20	36	0,5	+	+
9	0,55	16	60	2	+	—
10	0,24	8	12	1	+	+
11	0,12	8	12	1	+	+
12	0,50	8	12	1	+	+
13	0,41	24	12	2	+	+
14	0,18	24	12	2	+	+
15	0,14	24	12	2	+	+
16	0,70	16	36	3	+	+
17	0,60	32	84	4	+	+
18	0,93	32	84	4	+	—
$\bar{X} \pm S$	$0,49 \pm 0,36$	$19,4 \pm 8,5$	$37,3 \pm 29,1$	$2,0 \pm 1,2$	—	—

TABELA 2

Comparação dos níveis sangüíneos de dieldrin (teste t) em indivíduos agrupados de acordo com as vias de absorção, a duração da exposição, o intervalo entre a exposição e a coleta do sangue, e a quantidade da droga empregada

Variáveis analisadas	N	\bar{X}	$\pm S$	t	P
Vias de absorção					
respiratória + dérmica	13	0,542	0,364	0,708	> 0,05
respiratória	5	0,368	0,372		
Duração da exposição					
≥ 24 horas	7	0,479	0,273	0,133	> 0,05
< 24 horas	11	0,503	0,424		
Intervalo da exposição					
> 24 horas	10	0,485	0,282	0,106	> 0,05
< 24 horas	8	0,504	0,468		
Quantidade da droga empregada					
≥ 3 kg	5	0,664	0,170	1,254	> 0,05
< 3 kg	13	0,428	0,402		

Na tabela 2 apresentamos os níveis médios de dieldrin no soro dos indivíduos, agrupados em 2 classes dentro de cada uma das 4 variáveis analisadas. Não foi detectada diferença significativa entre as classes de qualquer das variáveis.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A sintomatologia de intoxicação pelos inseticidas organoclorados aldrin e dieldrin não é específica e o mecanismo pelo qual ela ocorre ainda não é bem conhecido. O grau de absorção pelo organismo parece ser um dos fatores de maior importância na intoxicação; contudo, os níveis sanguíneos de dieldrin dos indivíduos por nós estudados são muito elevados. Em 72% dos casos situam-se acima dos limites tidos como de tolerância, e se aproximam mais dos encontrados em casos de envenenamento ou intoxicação grave: 0,53 µg/ml (KAZANTZIS *et alii*⁷), 0,32 µg/ml (ROBINSON & HUNTER¹¹). Apesar disso, só um indivíduo (n.º 3), com nível de dieldrin no sangue de 1,37 µg/ml, manifestou sinais de intoxicação moderada, com cefaléia, tonturas, visão ofuscada, náuseas e sudorese intensa.

Em estudos toxicológicos uma das questões mais difíceis que surgem na discussão dos resultados se refere à organização genética das populações analisadas. LITTLEFIELD & KODELL³ apresentaram dados que demonstram a variabilidade da resposta média de ratos a um carcinogênico, resultante da distribuição diferente dos mesmos alelos nas populações. Esses autores encontraram diferenças significativas entre duas populações testadas, sendo que a geneticamente heterogênea (com os alelos distribuídos casualmente por toda a população) exibiu limites mais amplos de peso corporal e maior susceptibilidade ao teste químico do que a geneticamente homogênea (todos os indivíduos com alelos idênticos). As populações humanas são compostas de indivíduos com genótipos muito diferentes, e essa variabilidade genética, incontrolável experimentalmente, pode ser um fator explicativo para as respostas variadas oferecidas por diferentes indivíduos estudados.

Além disso, ANDERSON & WEBER¹, estudando peixes, apresentaram evidências de que a resposta à dose de dieldrin é uma função quantitativa do tamanho do corpo e, portanto, a relação entre a dose e a resposta deve diferir em indivíduos de tamanhos diferentes.

Vários fatores têm sido relacionados com o grau de contaminação dos manipuladores dos pesticidas nas fábricas, ou dos aplicadores: a

temperatura e a umidade do ar, o vento ou a ventilação, a duração da exposição, o método e a quantidade de material empregado^{13, 15, 16, 17, 18, 19}. Os dados obtidos no presente estudo não permitem o estabelecimento de correlação entre o nível de dieldrin detectado no sangue e o tempo de exposição ao aldrin, o intervalo exposição-coleta e a quantidade do pesticida utilizada. Possivelmente, as variações entre as 2 classes escolhidas para cada uma das variáveis analisadas não foram suficientes para evidenciar diferenças.

Para o grupo estudado, consideramos que o fator responsável pelo nível elevado de resíduos de dieldrin detectado no sangue seja a natureza do contacto que os aplicadores tiveram com o aldrin. Em nenhum caso houve utilização de qualquer proteção pessoal, conforme solicitado pelo fabricante. Somente 2 indivíduos (11% da amostra) tinham lido o rótulo da embalagem do pesticida e somente 5 misturaram o aldrin com as sementes, utilizando-se de ferramentas. Não havia, por parte da totalidade dos indivíduos, valorização de equipamento de proteção (luvas, aventais) ou cuidados especiais durante o período de trabalho (lavagem das mãos e outras partes expostas, antes de comer, beber, fumar e após o trabalho). O fato de não encontrarmos diferença significativa no nível sanguíneo médio de dieldrin entre indivíduos que acusam absorção respiratória e dérmica e indivíduos que só acusam absorção respiratória, pode ser atribuído ao tamanho pequeno da amostra dessa segunda classe e a elevada contaminação pela via respiratória desses indivíduos.

Consideramos que os dados obtidos na presente investigação devem se constituir em um alerta no sentido de constataremos que o homem do campo, pelo menos na maior parte do nosso país, arrisca sua vida imprudentemente. Portanto, urge que as medidas gerais de proteção na manipulação e aplicação dos pesticidas sejam mais divulgadas entre os lavradores e que sua execução seja fiscalizada de maneira mais eficiente pelos órgãos responsáveis.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Centro Nacional de Pesquisas (CNPq do Brasil pelo auxílio concedido (Proc. n.º 1381/77), ao Environmental Protection Agency dos Estados Unidos, pelo fornecimento dos padrões de organoclorados, à Srta. Maria Tercília Vilela de Azevedo e à Srta. Caludice Maganha Rey pelo valioso auxílio na coleta do material.

LARA, W.H.; BARRETTO, H.H.C. & VARELLA-GARCIA, M. — Dieldrin levels in the blood of farm workers applying aldrin, in São José do Rio Preto, state of São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):9-14, 1981.

ABSTRACT: Dieldrin levels were investigated in 18 farm workers exposed to aldrin. Markedly elevated blood concentrations (mean = 0.49 ppm; standard deviation = 0.36 µg/ml) were observed. These values are higher than those found in people with clinical manifestations of intoxication by dieldrin. No correlation between levels of dieldrin and variables such as duration of exposure, rate of application and time interval between exposure and blood sampling was detected. The high levels of contamination apparently resulted from the carelessness of the operators. It is advised that farm workers be warned about the danger and that official agencies take more effective measures and a better policy in these aspects.

DESCRIPTORS: dieldrin, levels, in the blood of farm-workers; pesticides, residues; insecticides (organochlorine), aldrin, dieldrin; occupational disease, hazards by exposure to aldrin.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSON, P.S. & WEBER, L.J. — Toxic response as a quantitative function of body size. *Toxicol. appl. Pharmacol.*, 33: 471-83, 1975.
2. BROWN, V.K.H.; HUNTER, C.G. & RICHARDSON, A. — A blood test diagnostic of exposure to aldrin and dieldrin. *Brit. J. ind. Med.*, 21:283-6, 1964.
3. DALE, W.E.; COPELAND, M.F. & HAYES Jr., W.J. — Chlorinated insecticides in the body fat of people in India. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 33:471-7, 1965.
4. DALE, W.E. & MILES, J.W. — Quantitative method for determination of DDT and DDT metabolites in blood serum. *J. Assoc. off. anal. Chem.*, 53:1287-92, 1970.
5. HAYES, W.J. & CURLEY, A. — Storage and excretion of dieldrin and related compounds: effects of occupational exposure. *Arch. environ. Hlth.* 16:155-62, 1968.
6. JAGER, K.W. — Aldrin, dieldrin, endrin & telodrin: an epidemiological and toxicological study of a longterm occupational exposure. Amsterdam, Elsevier, 1970.
7. KAZANTZIZ, G.; McLAUGHLIN, A.I.G. & PRIOR, P.F. — Poisoning in industrial workers by the insecticide aldrin. *Brit. J. ind. Med.*, 21:46-51, 1964.
8. LITTLEFIELD, N.A. & KODELL, R.L. — Influence of genetic population structure on the results of chronic toxicity studies. *J. Toxicol. environ. Hlth.* 5:121-9, 1979.
9. RADOMSKY, J.L.; ASTOLFI, E.; DEICHMANN, W.B. & REY, A.A. — Blood levels of organochlorine pesticides in Argentina: occupationally and nonoccupationally exposed adults, children and newborn infants. *Toxicol. appl. Pharmacol.*, 20: 186-93, 1971.
10. RADOMSKI, J.L.; DEICHMANN, W.B.; REY, A.A. & MERKIN, T. — Human pesticide blood levels as a measure of body burden and pesticide exposure. *Toxicol. appl. Pharmacol.*, 20:175-85, 1971.
11. ROBINSON, J. & HUNTER, C.G. — Organochlorine insecticides: concentrations in human blood and adipose tissue. *Arch. environ. Hlth.* 13:558-63, 1966.
12. SCHVARTSMAN, S.; ALMEIDA, W.F.; VAZ, F.A.C.; CORRADINI, H.B.; FIGATI, P.; GAETA, R. & UNGARO, M.T. — Blood levels of DDT in nonoccupationally exposed mothers and newborn infants in a city in Brazil. *Environ. Qual. Saf.*, 3: 154-6, 1974.
13. STAIFF, D.C.; COMER, S.W.; ARMSTRONG, J.F. & WOLFE, H.R. — Exposure to the herbicide Paraquat. *Bull. environ. Contam. Toxicol.*, 14:334-40, 1975.
14. WASSERMAN, M.; NOGUEIRA, D.P.; TOMATIS, L.; ATHIE, E.; WASSTRMAN, D.; DJAVAHERIAN, M. & GUTTEL, C. — Storage of organochlorine insecticides in people of São Paulo, Brazil. *Ind. Med. Surg.*, 41:22-5, 1972.
15. WOLFE, H.R. & ARMSTRONG, J.F. — Exposure of formulating plant workers to DDT. *Arch. environ. Hlth.* 23:169-76, 1971.

LARA, W.H.; BARRETTO, H.H.C. & VARELLA-GARCIA, M. — Níveis de dieldrin em sangue de aplicadores de aldrin na região de São José do Rio Preto, São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1): 9-14, 1981.

16. WOLFE, H.R.; DURHAM, W.F. & ARMS-TRONG, J.F. — Exposure of workers to pesticides. *Arch. environ. Hlth*, 14:622-33, 1967.
17. WOLFE, H.R.; STAIFF, D.C. & ARMS-TRONG, J.F. — Exposure of pesticide formulating plant workers to Parathion. *Bull. environ. Contam. Toxicol.*, 20:340-3, 1978.
18. WOLFE, H.R.; STAIFF, D.C. & ARMS-TRONG, J.F. — Exposure of formulating plant workers to Ethion and Malathion. *Bull. environ. Contam. Toxicol.*, 20:778-81, 1978.
19. WOLFE, H.R.; ARMSTRONG, J.F.; STAIFF, D.C. & COMER, S.W. — Exposure of sprayman to pesticides. *Arch. environ. Hlth*, 25:29-31, 1972.

Recebido para publicação em 30 de outubro de 1980.

DIRETRIZES DE UMA POLÍTICA PARA A REDE DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA DO ESTADO DE SÃO PAULO *

Eliseu Alves Waldman **

RIALA6/517

WALDMAN, E.A. — Diretrizes de uma política para a rede de Laboratórios de Saúde Pública do Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):15-21, 1981.

RESUMO: Após breve histórico, são discutidas as atribuições da rede de laboratórios de Saúde Pública do Estado de São Paulo e oferecidos subsídios para o seu planejamento e organização, além de critérios para sua avaliação.

DESCRIPTORIOS: laboratórios de saúde pública, Brasil; laboratórios de saúde pública, estrutura, organização, redes; planejamento em saúde; programas de saúde.

1 — INTRODUÇÃO

A criação, em fins do século XIX (1892) ^{4, 5}, do Instituto Bacteriológico e do Instituto Vacinogênico, do Laboratório de Análises Químicas e do Laboratório Farmacêutico, seis anos após a instituição da primeira "Inspeção de Higiene" do Estado de São Paulo, evidencia a preocupação das autoridades paulistas com o desenvolvimento de laboratórios de saúde pública em nosso meio.

Em 1899, face à ameaça da introdução da peste bubônica no país, estabeleceu-se no município de Santos um sistema de vigilância e controle desta moléstia, que enfrentou sérios obstáculos na obtenção do soro antipestoso pois, na época, era exclusivamente produzido pelo Instituto Pasteur de Paris. Tal fato tornou imprescindível a instalação em nosso país de um laboratório que assumisse esta responsabilidade, criando-se no mesmo ano o Instituto Soroterápico que, posteriormente, daria origem ao Instituto Butantã (1901) ^{4, 9}. Finalmente, em 1916, incorpora-se ao Serviço Sanitário o Instituto "Pasteur" de São Paulo ⁹, que tinha suas atribuições voltadas para o controle da raiva e que era, até então, mantido por uma sociedade particular.

A singular importância destas instituições no desenvolvimento da ciência em nosso meio, foi salientada por Nancy Stepan, em trabalho sobre o assunto ²⁰, que cita o Instituto Bacteriológico como o "primeiro centro científico do Brasil, organizado segundo linhas modernas de laboratório e cujo trabalho inclui a primeira aplicação sistemática da bacteriologia e da parasitologia em Saúde Pública no país" ²⁰.

Portanto, já no início deste século, contava o Estado de São Paulo com laboratórios de Saúde Pública que, para melhor distinção de suas atribuições, poderíamos classificar como "de produção", no caso do Instituto Vacinogênico, do Instituto Butantã e do Laboratório Farmacêutico, e de "prestação de serviços", quando nos referimos ao Instituto Bacteriológico, Instituto "Pasteur" e Laboratório de Análises Químicas e Bromatológicas ^{***}.

Desde seus primórdios, dois aspectos relativos à organização destas instituições preocuparam de maneira especial nossas autoridades sanitárias:

— O imperativo de sua racionalização técnico-administrativa, através de unificações em organismos de maior porte,

* Realizado na Divisão de Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz e do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

*** Esta denominação foi dada em 1896 ao antigo Laboratório de Análises Químicas.

assunto tratado já em 1913 pelo bacteriologista alemão Martin Ficker que, em estudo a respeito, propôs a fusão do Laboratório de Análises Químicas e Bromatológicas com o Instituto Bacteriológico⁴, sugestão aceita somente em 1940, com a criação do Instituto "Adolfo Lutz"^{4, 8, 9}.

— A necessária descentralização dos laboratórios destinados a prestação de serviços, aspecto previsto pela reforma do Serviço Sanitário do Estado, elaborada por Paula Souza, em 1923, que propunha a criação, tanto na Capital como no interior, de unidades de menor complexidade, que se incumbiriam de realizar os exames mais simples⁴. No entanto, essa descentralização somente teria início em 1938, com a instalação de laboratórios localizados em postos de saúde⁹, ampliando-se em 1943, com a criação dos laboratórios regionais do Instituto Adolfo Lutz, que viriam a localizar-se nas principais cidades do interior do Estado^{4, 8, 16}.

Portanto, no início dos anos quarenta, o Estado de São Paulo já contava com duas redes laboratoriais que, no entanto, desenvolviam suas atividades sem vínculo algum, isto até 1957 quando, por decreto governamental¹⁴, ficou estabelecido que os laboratórios das unidades sanitárias passariam a subordinar-se tecnicamente ao Instituto "Adolfo Lutz", permanecendo administrativamente ligados à unidade sanitária. Esta nova situação teve vigência até 1968, quando novos decretos^{10, 15} determinam a volta à situação original.

Na realidade, o insucesso desta primeira tentativa de unificação da rede de laboratórios prendeu-se especialmente ao caráter "vertical" da estrutura administrativa que vigorou na Secretaria da Saúde até 1969, permitindo ou mesmo estimulando a criação, por parte dos serviços especializados, de suas próprias redes laboratoriais, fenômeno idêntico ao ocorrido em outros países subdesenvolvidos^{5, 11}.

Em 1969, com a reforma administrativa promovida na Secretaria da Saúde, procurou-se extinguir praticamente todos os serviços especializados, substituindo-os por programas que passariam a desenvolver-se de maneira integrada em centros de saúde polivalentes. Todavia, a nova estrutura manteve a duplicidade existente nas atividades de laboratório, que continuaram sendo desenvolvidas simultaneamente pelos centros de saúde e pelas unidades do Instituto "Adolfo Lutz", o que permitiu o reaparecimento da antiga polêmica a respeito da formulação de uma política para a rede de laboratórios de saúde pública do Estado. Este último aspecto motivou a elaboração deste artigo que procurará, a partir da discussão da articulação da rede com o setor saúde, estabelecer uma proposta para a sua estrutura e organização, dado que ainda não está claramente definido.

2 — DESENVOLVIMENTO DOS SERVIÇOS DE SAÚDE PÚBLICA E SUAS IMPLICAÇÕES NA ÁREA LABORATORIAL

Após rápido histórico onde foram salientados pontos de importância para melhor situar as origens da rede de laboratórios de saúde pública do Estado de São Paulo, passaremos a discutir algumas modificações surgidas face à evolução conceitual e ao desenvolvimento dos serviços de saúde pública nos últimos anos.

2.1 *Sistema Nacional de Saúde*

A ampla discussão desenvolvida ultimamente a respeito da implantação de um sistema integrado, regionalizado e hierarquizado de serviços de saúde em nosso país, a despeito da inexistência na lei¹ que o propõe, de citação específica abordando o papel a ser desempenhado pela rede de laboratórios de saúde pública, tem aberto perspectivas para a participação desta última, no nível primário de atenção médica, proposta defendida por técnicos da Organização Mundial de Saúde¹².

2.2 *Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica*

No momento em que se cria um sistema de informação para ações de controle de determinadas doenças infecciosas², pressupõe-se a participação de laboratórios que obedeçam a técnicas padronizadas e que se submetam à supervisão contínua de órgãos credenciados pelo Ministério da Saúde. Só uma infra-estrutura de diagnóstico assim estabelecida nos fornecerá dados confiáveis e comparáveis entre si permitindo um diagnóstico fidedigno da situação epidemiológica das moléstias em questão. Entretanto, sabemos ser pouco provável que o setor privado se submeta a padrões técnicos e à supervisão de órgãos oficiais, motivo pelo qual somos favoráveis à atribuição de competência exclusiva das ações de diagnóstico referentes às doenças submetidas ao sistema de vigilância epidemiológica à rede de laboratórios de saúde pública.

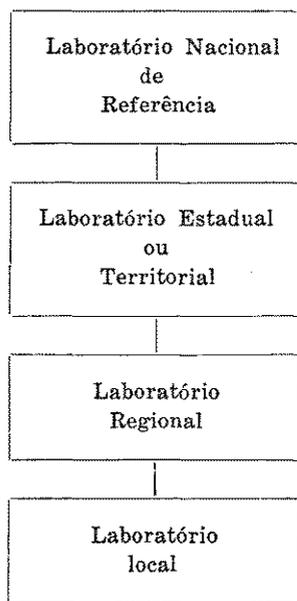
2.3 *Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública*

Este sistema³ propõe a implantação de uma rede regionalizada, com unidades de complexidade crescente, que abrange desde o laboratório local até o laboratório nacional de referência; além disso, define-a não só técnica e administrativamente, como também estabelece toda uma nova filosofia de trabalho, sendo mais significativos os aspectos que passamos a citar:

— Concebe a rede como constituída de unidades dinâmicas que devem ir a campo proceder a inquéritos e levantamentos, antecipando-se a necessidades sentidas

e não permanecer estática, limitando-se ao atendimento da demanda. No atendimento da coletividade deverão ser observados critérios epidemiológicos².

- Cada unidade deve atender a área geográfica bem definida e utilizar métodos e técnicas padronizadas a nível nacional³.
- Deve apoiar o sistema nacional de vigilância epidemiológica e o de vigilância sanitária de determinados produtos de consumo humano³.
- Entre suas atividades-meio, salienta a padronização de técnicas, de materiais e equipamento, a promoção de treinamento de pessoal e o estabelecimento de um sistema de supervisão técnica com o fito de garantir a utilização dos padrões fixados³.
- Quanto à sua estrutura, obedece ao seguinte organograma:



2.4 Implantação de programas de saúde desenvolvidos em unidades sanitárias polivalentes

Em 1975, as discussões para a elaboração dos programas a serem desenvolvidos por centros de saúde polivalentes tiveram como um dos pontos mais polêmicos a definição da estrutura laboratorial que lhe daria suporte. Este fato determinou estudos na Secretaria da Saúde, a respeito da conveniência ou não da manutenção de duas redes laboratoriais no Estado de São Paulo, a do Instituto "Adolfo Lutz" e a das Unidades Sanitárias. Estes estu-

dos chegaram a conclusões cuja síntese passaremos a apresentar:

- Os laboratórios localizados nas unidades sanitárias praticamente não conseguiram suprir as necessidades dos programas em virtude da inexistência de uma estrutura especializada, de maior complexidade, que lhes desse apoio técnico e logístico.
- O número excessivo destes laboratórios, além da falta de critérios na sua localização, tornava-os demasiadamente dispendiosos, não só quando da aquisição de seu equipamento mínimo indispensável, mas principalmente devido ao alto custo de sua manutenção.
- A excessiva descentralização tornava impraticável, dentro dos recursos existentes, a criação de um sistema de treinamento e supervisão contínua que garantisse um mínimo de qualidade nos exames executados.
- O problema de reposição de pessoal mostrou-se dos mais sérios, uma vez que, do rol de prioridades estabelecidas pelos centros de saúde, geralmente não constava a atividade de laboratório, redundando em freqüentes paralisações de atividades.
- A tentativa, realizada durante o período de 1957 a 1968, de subordinar tecnicamente os laboratórios locais ao Instituto "Adolfo Lutz", e administrativamente ao centro de saúde, gerou uma situação de duplo mando.
- O fato de ter a descentralização da colheita de amostras para exames praticamente acompanhado o das atividades de laboratório, criou sérios problemas dado que forçava o deslocamento dos pacientes, quando o mais lógico seria a criação de postos de coleta em cada centro de saúde, e o estabelecimento de fluxos para o encaminhamento das amostras ao laboratório mais próximo.
- A grande disparidade entre as atividades desenvolvidas pelos laboratórios regionais e o laboratório central do Instituto "Adolfo Lutz", e a falta de definição das atribuições dos primeiros, impedia a consolidação desta rede como um sistema hierarquizado com complexidade crescente.
- As unidades regionais do Instituto "Adolfo Lutz", pela ausência de um vínculo maior com os programas desenvolvidos pelos diversos órgãos da Secretaria da Saúde, assumiam, na realidade, o papel de laboratórios de análises clínicas, voltados para a prestação de serviços à população destituída de seguros previdenciários.
- A duplicidade de atribuições em questão permitiu, com certa freqüência, a exis-

tência de dois laboratórios num único município, um pertencente ao Instituto "Adolfo Lutz" e outro, a um centro de saúde, com a conseqüente subutilização de ambos.

Com base nas considerações acima e, ainda, no fato de que a integração dos serviços constitui uma das diretrizes básicas da atual estrutura da Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo, preconizou-se a instituição de uma única rede de laboratórios de saúde pública, estabelecendo-se um processo gradual de unificação^{18, 19}, que alcançaria seu objetivo em 1979, por um ato administrativo¹⁷ que estabeleceu a subordinação técnica e administrativa das unidades sediadas em centros de saúde ao Instituto "Adolfo Lutz", o que permitiu a constituição de um sistema regionalizado e hierarquizado, obedecendo a normas técnicas padronizadas pelo seu nível mais alto.

Considerando, no entanto, que a situação ora exposta pode apresentar caráter transitório, uma vez que o ato administrativo que lhe confere cunho formal não possui a força de uma lei, podendo ser alterado mediante simples redirecionamento na política da Secretaria da Saúde para este setor, fomos levados a apresentar uma proposta que possa fornecer subsídios para novos estudos.

3 — PROPOSTA DE ORGANIZAÇÃO DA REDE DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA DO ESTADO DE SÃO PAULO

3.1 Estrutura

Pelo exposto, parece-nos inconteste que o Estado de São Paulo deverá ter uma única rede de laboratórios de saúde pública, no setor conceituado, no início deste trabalho, como de "prestação de serviços", subordinado ao Instituto "Adolfo Lutz". Sua estrutura deverá obedecer àquela estabelecida pelo Ministério da Saúde³, acrescentando-se-lhe um tipo intermediário de unidade que se situará entre o Laboratório Regional e o Local, que poderemos designar de laboratório "sub-regional" e que virá atender às necessidades da área metropolitana e das regiões com grande número de cidades de média concentração populacional.

Este laboratório sub-regional terá atribuições até certo ponto semelhantes às do laboratório regional, excluídas as de exames bromatológicos; sua estrutura, tanto técnica como administrativa, será mais simples, dando cobertura a um número menor de Distritos Sanitários, mas tendo obrigatoriamente em seu comando um elemento de nível universitário.

Quanto à sua distribuição geográfica, os laboratórios regionais deverão acompanhar em número as Divisões Regionais de Saúde e, sempre que possível, localizarem-se nos muni-

cípios sede das mesmas. Já para a localização das Unidades sub-regionais e locais propomos dois critérios distintos:

a) Região da Grande São Paulo

Esta área, além do laboratório central e de um regional, deverá possuir de cinco a sete unidades localizadas em setores de maior concentração populacional, próximos às principais vias de comunicação.

Quanto à sua complexidade, será a de um laboratório "sub-regional", dada a necessidade de maior flexibilidade no atendimento da demanda existente numa região metropolitana, e pelo importante fator de ter em seu comando um elemento de nível universitário, características que não poderiam ser apresentadas por um laboratório "local".

b) Regiões do Interior do Estado

Para estas áreas, as unidades tanto "sub-regionais" como "locais" deverão localizar-se em municípios sede de Distritos Sanitários e a opção, quanto à complexidade do laboratório, estará condicionada às características demográficas da área, ao desenvolvimento sócio-econômico e, conseqüentemente, ao padrão técnico dos demais serviços de atenção médica.

Para a consolidação desta estrutura, é fundamental a criação de postos de coleta de amostras em todos os centros de saúde da Secretaria, ficando esta atividade sob a responsabilidade do setor de enfermagem.

A eficácia deste sistema estará condicionada à capacidade de se estabelecerem fluxos ágeis de encaminhamento aos laboratórios de amostras colhidas nas unidades sanitárias, e das respectivas devoluções dos resultados, tornando indispensável a utilização de formas alternativas de transporte, seja através de veículos dos próprios órgãos da Secretaria, de ônibus intermunicipais e, sempre que possível, através do correio, supondo como pré-requisito a existência de embalagens adequadas a esta finalidade^{6, 7}.

Quando completamente implantada, esta rede terá aproximadamente setenta laboratórios. Contudo, consideramos aconselhável que a criação de novas unidades se processe de forma gradual, com a observação prévia da existência de demanda que a justifique e de uma infra-estrutura que garanta o seu funcionamento regular e a qualidade de seus serviços.

3.2 Atribuições

A rede de laboratórios de saúde pública deverá assumir as seguintes atribuições:

a) Constituir suporte laboratorial de:

— Programas e sub-programas de saúde^{5, 6}.

— Sistema de Vigilância Epidemiológica^{6,7}.

— Programas de controle de qualidade de medicamentos e alimentos de consumo humano.

— Sistema primário de atenção médica oficial, constituído pela rede de centros de saúde do Estado, e dos municípios.

b) Capacitar-se como centro de referência e treinamento para laboratórios oficiais e privados existentes em sua área.

c) Constituir-se em fonte de informações de interesse epidemiológico

Neste último item cabem alguns comentários, uma vez que estabelecemos uma distinção entre as informações destinadas a ações imediatas de controle relativo às doenças incluídas no sistema de vigilância epidemiológica, e aquelas de "interesse epidemiológico" que dizem respeito a moléstias que, por sua importância, devem ter sua frequência e distribuição acompanhadas, para eventuais medidas ou programas de controle.

Citaremos, como exemplo, os exames para diagnóstico sorológico da sífilis, feitos de rotina em gestantes atendidas pelos centros de saúde, e aqueles destinados ao controle das infecções chagásica, luética, e por antígeno HBs em doadores de sangue. Se o registro destes dados no laboratório se fizer de forma a torná-los recuperáveis, possibilitará aos serviços de epidemiologia do Estado colher informações a respeito da tendência secular destas doenças nestes segmentos da população, permitindo igualmente calcular o risco de sua transmissão por via transplacentária ou por transfusão sanguínea nos grupos expostos.

3.3 Integração da rede de laboratórios de saúde pública com outras instituições do setor saúde

Para o efetivo cumprimento de suas atribuições, impõe-se um estreito relacionamento com as demais entidades do setor saúde, existentes em sua área de atuação. Esta postura dinâmica, assumida pelos laboratórios de saúde pública, constitui aspecto relevante em sua diferenciação com os de análises clínicas.

Com o intuito de salientar a importância desta integração, teceremos alguns comentários relativos aos setores que consideramos prioritários:

a) Hospitais

Salientamos o interesse no estabelecimento de vínculo com os hospitais que internam suspeitos de acometimento por doença submetida ao sistema de vigilância epidemiológica. Este entrosamento é indispensável à criação de fluxos de encaminhamento de amostras para a confirmação laboratorial do diagnóstico etio-

lógico por técnicas padronizadas. Por outro lado, consideramos importante que cada unidade de nível regional efetue controle bacteriológico para a detecção de infecções hospitalares, especialmente em berçário, uma vez que esta atividade, além de permitir a obtenção de informações epidemiológicas a respeito do problema, propicia à sua equipe oportunidade de familiarizar-se com métodos de isolamento e identificação de enterobactérias, uma vez que lida com população de alto risco para tais infecções.

Se conseguirmos a manutenção de uma demanda regular, mesmo que não elevada, de coproculturas nos moldes acima referidos, será possível ao laboratório central, desde que receba das unidades regionais as cepas de enterobactérias isoladas, estabelecer um sistema de controle de qualidade.

b) Bancos de sangue

A prestação de serviço a estas entidades, além de permitir a obtenção de informações de interesse epidemiológico, contribui para o aprimoramento de padrão técnico das transfusões sanguíneas, diminuindo o risco de transmissão de infecção por esta via.

Por outro lado, à medida em que estes laboratórios adquirirem maior experiência neste setor, terão melhores condições de assessorar o Serviço de Fiscalização do Exercício Profissional na verificação do cumprimento da legislação sanitária, no que se refere a hemoterapia¹².

c) Centros de Saúde e Superintendência do Controle de Endemias (SUCEN)

Julgamos dispensáveis considerações relativas à importância da integração da rede de laboratórios com estas Instituições, haja visto a clara interrelação de suas atividades.

3.4 Padronização de técnicas

A implantação de técnicas padronizadas é imprescindível, não só para maior racionalização administrativa na compra de equipamentos e material de consumo, como também para facilitar o treinamento do pessoal, permitir a comparabilidade dos resultados dos exames realizados nas diversas unidades da rede e, finalmente, possibilitar o estabelecimento de um sistema de supervisão.

É forçoso salientar que, em se tratando de ações voltadas para a saúde pública, as opções por técnicas devem recair sobre as que apresentam características de fácil reprodutibilidade, baixo custo, alta sensibilidade, sem obrigatoriedade de igual especificidade.

3.5 Formação de pessoal

Nunca é demasiado ressaltar a importância do treinamento e da reciclagem periódica, não só para a garantia da fiel observância das técnicas padronizadas, como também pelo es-

tímulo profissional à equipe, uma vez que permite contínua atualização, interessando-a pela pesquisa e desenvolvimento de novos conhecimentos.

De igual relevância é a manutenção, na equipe, de uma supervisão contínua, pois mantém a homogeneidade e a qualidade dos serviços prestados; contudo, o seu êxito depende não só de conhecimento e experiência do responsável, como também da nítida diferenciação desta atividade com a de fiscalização.

3.6 Critérios de avaliação

O processo de avaliação é fundamental para o acompanhamento da eficiência e eficácia do sistema; sua elaboração se fará através de indicadores, tais como:

a) Controle de qualidade

Este aspecto deverá ser apreciado através de relatórios referentes às supervisões direta e indireta, os quais serão consolidados em "matrizes de avaliação" especialmente elaboradas para este fim.

b) Cobertura

Este indicador apresentará uma visão da cobertura oferecida pelos diversos laboratórios às unidades sanitárias pertencentes à área sob sua responsabilidade. Esta informação poderá ser obtida através de boletim que especifique a procedência das amostras examinadas.

c) Caracterização da demanda

Quanto a este item procuraremos analisar o tipo de serviços prestados, pela resultante da razão entre o número de exames de "interesse em saúde pública" e o total realizado durante o período estudado.

$$I = \frac{\text{n.º de exames de "interesse em saúde pública" realizados}}{\text{total de exames realizados}} \times 100$$

Para a obtenção deste indicador, consideramos de interesse em saúde pública:

- Exames destinados aos programas e sub-programas de saúde.
- Exames destinados ao diagnóstico de doenças submetidas ao Sistema de Vigilância Epidemiológica.

- Exames bacteriológicos.
- Provas para o diagnóstico sorológico da sífilis e de outras infecções, quando destinadas ao controle de bancos de sangue.
- Exames bromatológicos.
- Exames destinados ao estudo dos vetores e dos hospedeiros intermediários.

É interessante salientar, para análise deste indicador, que a partir do momento em que esta rede participar de forma efetiva e normatizada como suporte laboratorial do sistema de atenção médica primária, todos os exames originados desta demanda deverão ser considerados como de interesse em saúde pública.

4 — CONCLUSÕES

Para que se alcance a eficácia e eficiência esperadas, a rede de laboratórios de saúde pública do Estado de São Paulo deverá:

- Ser única e plenamente integrada aos programas desenvolvidos pela Secretaria da Saúde.
- Ter seu pessoal integrado à equipe da Secretaria da Saúde, participando na mesma, desde a elaboração até a avaliação dos programas.
- Assumir uma postura dinâmica, sem se restringir unicamente ao atendimento da demanda, procurando relacionar-se com todos os órgãos do setor saúde existentes na área sob sua responsabilidade.
- Centralizar, tanto quanto possível, a execução dos exames, descentralizando ao máximo a coleta de amostras, com o intuito de racionalizar o sistema, diminuindo seus custos, aprimorando a qualidade técnica dos exames, tornando o serviço mais acessível à clientela dos centros de saúde.
- Padronizar as técnicas utilizadas nas unidades da rede, estabelecendo uma política de treinamento de pessoal, um sistema de supervisão e outro de controle de qualidade.
- Proceder a uma avaliação contínua do desempenho das unidades da rede e do sistema como um todo.

RIALA6/517

WALDMAN, E.A. — Bases for planning a network of Public Health Laboratories for the state of São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):15-21, 1981.

ABSTRACT: A brief historical review of the public health laboratory network of the state of São Paulo, Brazil, is made. A rationale for planning and improved network is offered as well as suggestions for evaluation of the results of this planning.

DESCRIPTORS: health planning; state health planning, Brazil; public health laboratory; public health laboratory network, Brazil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Leis, decretos, etc. — Lei n.º 6.229 de 17 de julho de 1975. In: BRASIL. Ministério da Saúde — *Legislação federal do setor Saúde*. 2.ª ed. Brasília, Consultoria Jurídica, 1977. v. 1, p. 149-53. Dispõe sobre a organização do Sistema Nacional de Saúde.
2. BRASIL. Leis, decretos, etc. — Lei n.º 6.259 de 30 de outubro de 1975. In: BRASIL. Ministério da Saúde — *Legislação federal do setor Saúde*. 2.ª ed. Brasília, Consultoria Jurídica, 1977, v. 1, p. 153. Dispõe sobre a organização das ações de Vigilância Epidemiológica, sobre o Programa Nacional de Imunizações, estabelece normas relativas à notificação compulsória de doenças, e dá outras providências.
3. BRASIL. Leis, decretos, etc. — Portaria n.º 280/Bsb de 21 de julho de 1977. *Diário Oficial*, Brasília, 29 jul. 1977. p. 9741. Institui o Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública.
4. CALAZANS, S. — Laboratórios de Saúde Pública, sua criação e desenvolvimento em São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 16: 85-135, 1956.
5. CARVALHO, J.P.P. — Os laboratórios de saúde pública nos programas de saúde pública. *Rev. Saúde públ.*, 10:191-207, 1976.
6. CARVALHO, J.P.P. — A organização dos laboratórios estaduais de saúde pública no Brasil. *Rev. Saúde públ.*, 10:345-53, 1976.
7. CARVALHO, J.P.P. — *Subsídios para o estudo da administração dos serviços de laboratórios de saúde pública da USP*. São Paulo, 1979. 212 p. [Tese Livre-doc. — Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo]
8. LEMOS, F.C. — Contribuição à história do Instituto Bacteriológico, 1892-1949. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 14 (n. esp.): 1-161, 1954.
9. MASCARENHAS, R.S. — *Contribuição para o estudo da administração sanitária em São Paulo*. São Paulo, 1949. 565 p. [Tese livre-doc. — Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo]
10. NIERO, R. — *Laboratórios de bacteriologia da tuberculose. Subsídios para a implantação de uma rede no Estado de São Paulo*. 1975. p. 35-35. [Tese — Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo]
11. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD — Comité de Expertos de la OMS en Servicios de Laboratorio de Salud, Ginebra, 1971. *Planificación y organización de servicios de laboratorio de Salud*. 5.º informe. Ginebra, 1972. (Ser. inf. técn., 491)
12. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD — Los servicios de laboratorio en la atención primaria de salud. *Cronica OMS*, 33: 377-81, 1979.
13. SÃO PAULO. Leis, decretos, etc. — *Decreto 12.342 de 27 de setembro de 1978. Regulamento da promoção, preservação e recuperação da saúde no campo de competência da Secretaria de Estado da Saúde*. [São Paulo, Imprensa Oficial, 1979] 350 p.
14. SÃO PAULO. Leis, decretos, etc. — Decreto n.º 27.666, de 8 de março de 1957. *Coleção das Leis e Decretos do Estado de São Paulo*, 67 (1.º trim.): 860-2, 1957. Determina que os serviços do 'Instituto Adolfo Lutz' sejam prestados pelo Laboratório Central de Laboratórios Regionais, e dá outras providências.
15. SÃO PAULO. Leis, decretos, etc. — Decreto n.º 52.182, de 16 de julho de 1969. *Coleção das Leis e Decretos do Estado de São Paulo*, 79 (3.º trim.): 200-36, 1969. Dispõe sobre a organização da Secretaria de Estado da Saúde e dá outras providências.
16. SÃO PAULO. Leis, decretos, etc. — Decreto-lei n.º 13.789, de 31 de dezembro de 1943. *Coleção das Leis e Decretos do Estado de São Paulo*, 43 (4.º trim.): 706-8, 1944. Dispõe sobre a transferência da Seção Bromatológica do Serviço de Alimentação Pública do Interior para o Instituto Adolfo Lutz.
17. SÃO PAULO. Leis, decretos, etc. — Resolução SS 15, de 19-2-79. *Diário Oficial*, São Paulo, 20 fev. 1979. p. 25. Dispõe sobre a subordinação de laboratórios localizados em unidades sanitárias da Coordenadoria de Saúde da Comunidade.
18. SÃO PAULO. Leis, decretos, etc. — Resolução SS n.º 21, de 27-7-77. *Diário Oficial*, São Paulo, 28 jul. 1977. p. 34. Aprova a Portaria Conjunta dos Coordenadores da Saúde da Comunidade e de Serviços Técnicos Especializados.
19. SÃO PAULO. Leis, decretos, etc. — Resolução SS n.º 60, de 15-10-76. *Diário Oficial*, São Paulo, 19 out. 1976. p. 28. Autoriza o Instituto Adolfo Lutz a operar atividades laboratoriais em Centros de Saúde.
20. STEPAN, N. — *Gênese e evolução da ciência brasileira. Oswaldo Cruz e a política de investigação científica e médica*. Rio de Janeiro, Artenova, c1976. p. 126-42.

Recebido para publicação em 4 de novembro de 1980.

AValiação DA EFICÁCIA DO MÉTOD0 DE KATO-KATZ NO DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA *

Pedro Paulo CHIEFFI **
Rubens Murillo MARQUES ***
José G. Vergetti de SIQUEIRA ****

RIALA6/518

CHIEFFI, P.P.; MARQUES, R.M. & SIQUEIRA, J.G.V. — Avaliação da eficácia do método de Kato-Katz no diagnóstico parasitológico da esquistossomose mansônica. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):23-30, 1981.

RESUMO: Para avaliar a variação dos resultados de exames coprológicos realizados pelo método de Kato-Katz selecionaram-se 11 pacientes, comprovadamente infectados por *Schistosoma mansoni* e nunca submetidos à terapêutica específica, e coletaram-se 19 amostras diferentes de fezes de cada um, durante quatro semanas consecutivas. De cada amostra prepararam-se quatro lâminas e cada uma foi examinada por quatro microscopistas que determinaram o número total de ovos de *S. mansoni* presentes, em experimento cego. Os resultados indicaram a existência de diferença significante entre o número médio de ovos eliminados por um mesmo paciente, ao longo dos 19 dias de pesquisa. Notou-se, também, variação significativa entre as médias das leituras de cada examinador, para o mesmo dia. Por outro lado, quando se comparou o resultado de um mesmo examinador na leitura das quatro lâminas de cada amostra, no mesmo dia, observou-se diferença significativa na quantidade de ovos encontrados. Raramente verificou-se discordância entre os microscopistas quanto aos resultados qualitativos.

DESCRITORES: esquistossomose mansônica, diagnóstico parasitológico; método de Kato-Katz, eficácia, variabilidade.

INTRODUÇÃO

O diagnóstico da esquistossomose mansônica, quando se quer *determinar a prevalência do parasita* com o objetivo de avaliar o índice de endemicidade em extensos setores da população, é geralmente realizado através de técnicas de exame coprológico.

Por recomendação da Organização Mundial da Saúde¹³, ultimamente, têm-se adotado técnicas coprológicas quantitativas com a finalidade de avaliar não apenas a prevalência de esquistossomose, mas também a intensidade

de infecção em populações de regiões endêmicas.

HAIRSTON⁹ chamou a atenção para o fato de que a determinação da prevalência de esquistossomose por meio de métodos quantitativos pode, às vezes, fornecer resultados menos sensíveis do que quando se empregam técnicas de concentração, normalmente utilizadas nos exames copros cópicos qualitativos. Contudo, diversos autores^{4, 6, 12} referem bons resultados no diagnóstico da esquistossomose mansônica quando é empregado o método de Kato.

O objetivo do presente trabalho é avaliar a variabilidade, nos resultados quantitativos e

* Realizado no Laboratório Regional da Superintendência da Campanha de Saúde Pública, Maceió, AL.

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

*** Da Secretaria de Economia e Planejamento, São Paulo, SP.

**** Da Diretoria Regional da Superintendência da Campanha de Saúde Pública, Maceió, AL.

qualitativos, de exames coproscópicos de pacientes comprovadamente infectados por *Schistosoma mansoni* e nunca submetidos a tratamento específico, quando realizados pelo método de Kato-Katz e examinados por quatro microscopistas, em condições comparáveis com as utilizadas em trabalhos de campo.

MATERIAL E MÉTODOS

Selecionaram-se 11 pacientes comprovadamente infectados por *S. mansoni*, sem nunca terem recebido tratamento específico, residentes no município de Maceió, Alagoas. A idade dos pacientes variou de 9 a 56 anos; cinco pertenciam ao sexo feminino e seis ao masculino. Solicitou-se de cada paciente que, durante o período de quatro semanas consecutivas, fornecesse diariamente uma amostra de fezes, de maneira a completar 20 amostras diferentes ao longo do tempo. Nenhum paciente conseguiu obter o número total de amostras, variando de 10 a 19 a quantidade fornecida por cada um (ver tabela 1).

De cada amostra, após cuidadosa homogeneização do material, prepararam-se quatro lâminas, conforme a técnica quantitativa para a realização do método de Kato, descrita por

KATZ *et alii*¹¹. As lâminas foram identificadas através de números sorteados aleatoriamente, de forma a não permitir aos microscopistas o reconhecimento do paciente. Cada lâmina foi examinada por quatro microscopistas que determinaram o número total de ovos de *S. mansoni* presentes, em experimento cego. Um dos microscopistas foi considerado como padrão em consequência de sua melhor capacitação técnica. Os demais, tiveram seus resultados comparados com os obtidos pelo microscopista-padrão.

Antes de iniciar o trabalho, os microscopistas foram submetidos a treinamento prévio, ministrado pelo microscopista-padrão, com a finalidade de tentar eliminar fatores individuais de erro na leitura das lâminas.

Todos os examinadores utilizaram microscópios semelhantes, empregando objetiva e ocular que proporcionavam aumento de 100 vezes. A determinação do número de ovos em cada lâmina se fez através do uso de registrador manual.

A abordagem estatística empregada na interpretação dos resultados foi a de construção de um modelo de Análise de Variância, a quatro critérios de classificação, parcialmente hierárquico².

TABELA 1

Relação dos pacientes examinados quanto ao sexo, idade e número de amostras de fezes fornecidas

Paciente	Sexo	Idade	Amostras
1	masculino	21	18
2	masculino	21	17
3	masculino	21	17
4	masculino	21	16
5	masculino	27	10
6	feminino	39	19
7	feminino	14	19
8	feminino	38	15
9	feminino	9	18
10	feminino	10	18
11	feminino	56	15

RESULTADOS

Os resultados das leituras realizadas pelo microscopista-padrão indicaram a existência

de diferença altamente significativa entre o número médio de ovos eliminados por um mesmo paciente ao longo dos 19 dias de pesquisa, conforme pode se observar na tabela 2.

TABELA 2

Número médio de ovos de *Schistosoma mansoni* por grama de fezes eliminado por dia (média da leitura de quatro lâminas) em 11 pacientes submetidos a 19 exames pelo método de Kato-Katz, em ocasiões diferentes conforme resultados do microscopista-padrão

Dia Paciente																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	168	36	372	504	444	96	150	184	78	18	120	96	—	24	384	300	150	468	120
2	36	—	—	54	224	12	12	114	24	66	32	54	12	12	48	18	90	54	48
3	162	84	888	720	642	1.176	618	108	—	312	594	1.320	—	528	396	1.140	978	546	1.110
4	42	24	150	138	24	108	144	72	200	176	42	42	—	—	24	90	24	48	—
5	36	12	132	12	—	6	84	—	—	—	0	—	36	0	72	—	—	—	—
6	108	96	174	138	198	222	258	246	296	96	54	66	114	198	240	114	48	138	324
7	78	312	320	432	474	612	1.266	1.566	318	72	720	534	864	282	108	78	210	234	354
8	528	48	—	—	528	1.368	606	336	222	984	576	—	954	—	876	462	1.146	714	1.014
9	36	—	6	6	—	6	24	144	12	78	54	84	18	84	24	30	18	36	12
10	—	1.416	2.592	750	1.086	1.290	2.112	1.062	2.730	1.296	2.472	1.776	1.326	1.140	1.590	1.428	2.028	2.094	2.388
11	—	18	30	0	—	24	12	6	12	12	6	12	6	—	30	—	6	6	72
		1.056																	

As casas vazias (—) indicam que o paciente não enviou fezes neste dia.

Ao se compararem os resultados obtidos pelos quatro examinadores notou-se diferença significativa entre as médias das leituras de cada um, para o mesmo paciente, no mesmo dia. E, ao se confrontarem os resultados de um mesmo examinador na leitura das quatro lâminas que compunham o total das amos-

tras provenientes de um mesmo paciente em determinado dia, observou-se diferença estatisticamente significante entre o número total de ovos encontrados em cada lâmina. Na tabela 3 são sumariados os dados fornecidos pela análise de variância dos resultados.

TABELA 3

Análise estatística dos resultados, através de modelo de análise de variância, a quatro critérios de classificação

Fonte de variação	Soma dos quadrados	G.L.	Quadrado médio	F
Entre dias	29.210.557	18	1.622.809	50,12
Entre pacientes (dia)	1.082.448.500	151	7.168.534	221,39
Entre examinadores (dia)	101.194.250	510	198.420	6,13
Entre lâminas (dia)	77.977.750	510	152.898	4,72
Interação examinador X lâmina (dia)	49.540.250	1.530	32.379	—
Total	1.340.371.380	2.719	—	—

As diferenças entre os quatro examinadores tornaram-se mais patentes nos pacientes que apresentaram baixo nível de infecção; naqueles que eliminaram grande número de ovos notou-se tendência a maior uniformidade entre as leituras realizadas, como indica a análise das figuras 1 e 2.

Com relação aos resultados qualitativos, raramente ocorreu discrepância entre as leituras dos quatro examinadores.

DISCUSSÃO

A avaliação da prevalência e intensidade de infecção por *S. mansoni* em populações residentes em áreas endêmicas é tarefa que encerra dificuldades, em consequência de variações na presença e quantidade de ovos eliminados pelas fezes dos indivíduos infectados. Em trabalho anterior, comentaram-se as principais variáveis relacionadas com este fato⁵; todavia, é interessante retomar a discussão sobre dois aspectos — irregularidade no ritmo de eliminação fecal de ovos de *S. man-*

soni e distribuição dos ovos do parasita na matéria fecal — à luz dos dados obtidos no presente trabalho.

A ocorrência de postura irregular em fêmeas de *S. mansoni* e, conseqüentemente, eliminação inconstante de ovos pelas fezes já foi assinalada em diversas ocasiões^{16, 9}, embora existam relatos referindo-se à estabilidade na eliminação fecal de ovos em pacientes infectados por *S. haematobium*¹³ e mesmo *S. mansoni*¹, quando se avalia a quantidade de ovos eliminada em períodos relativamente longos. Recentemente, DOMINGUES *et alii.*⁸ também encontraram ampla flutuação na contagem de ovos de *S. mansoni*, eliminados em dias consecutivos por pacientes infectados, porém atribuíram este fato a fatores intervenientes como variação na consistência das fezes, presença de resíduos no material examinado e ocorrência de poliparasitismo. Nossos resultados, expressos na tabela 2, mostram grande variação na quantidade de ovos eliminados ao longo de 19 dias pelos pacientes examinados, reforçando a hipótese de que, pelo menos para períodos curtos de tempo, é extremamente irregular a excreção fecal de ovos de *S. mansoni* por um mesmo paciente.

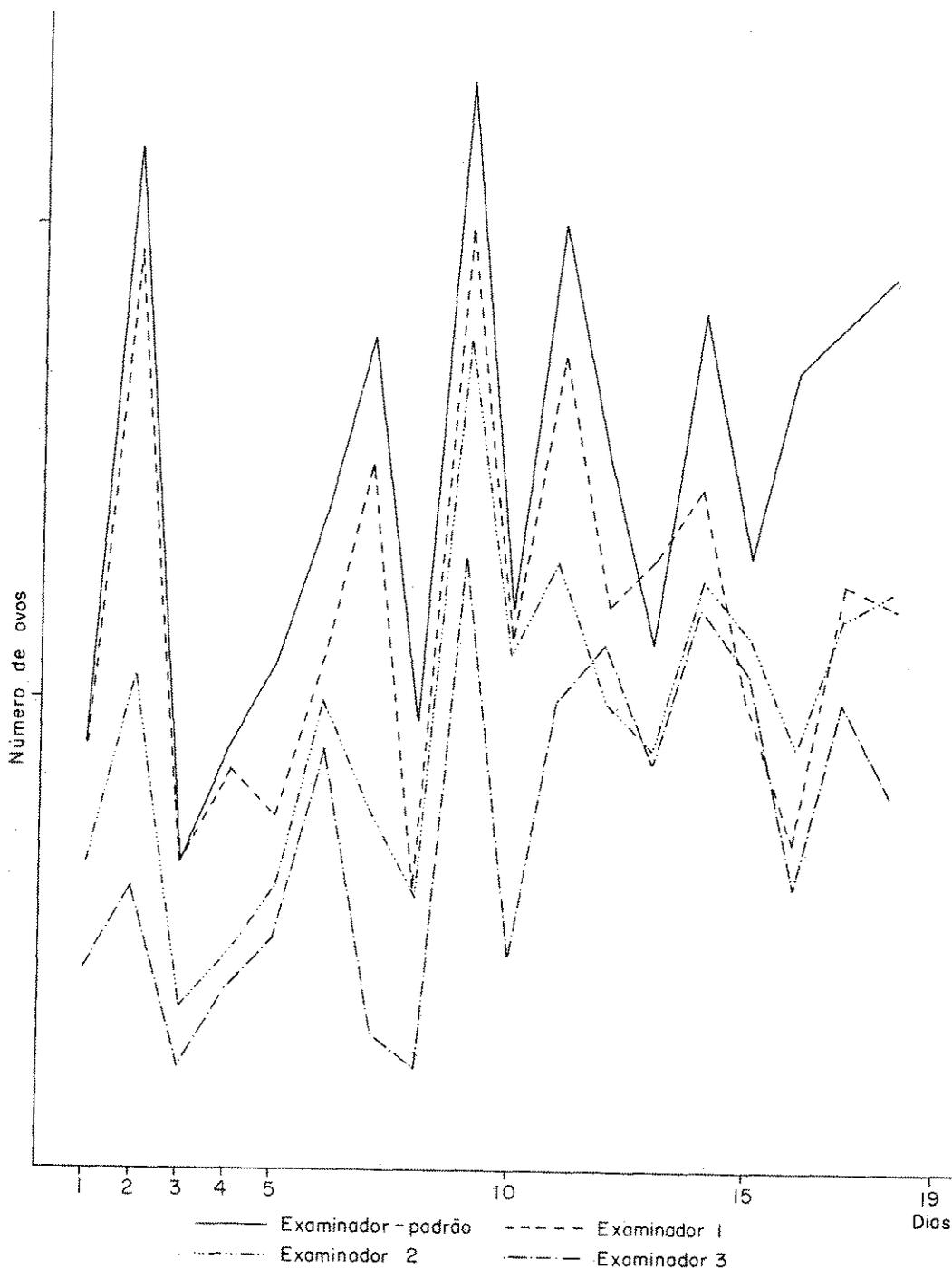


FIGURA 1 — Média diária do número de ovos de *Schistosoma mansoni* diagnosticados por examinador, em paciente com infecção esquistossomática intensa.

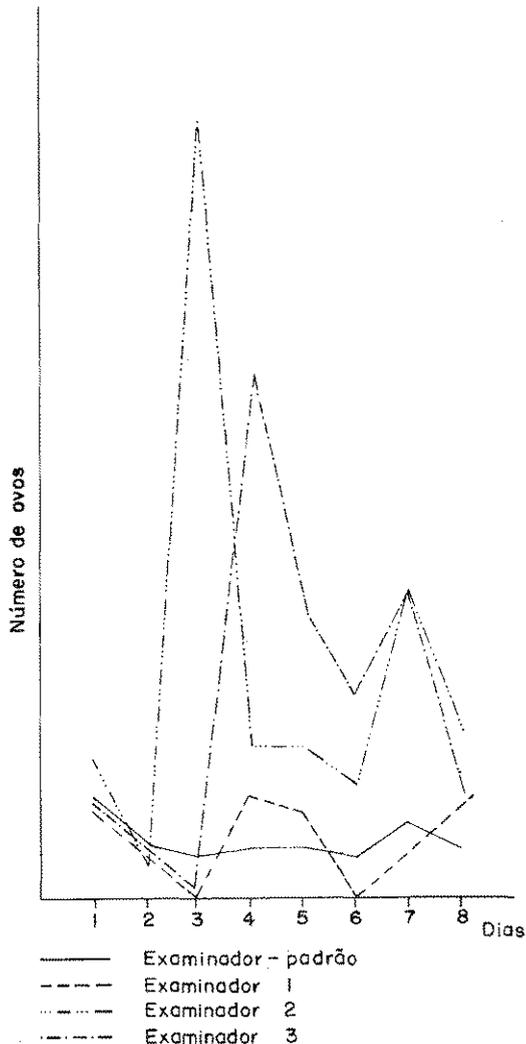


FIGURA 2 — Média diária do número de ovos de *Schistosoma mansoni* diagnosticados por examinador, em paciente com infecção esquistossomótica leve.

Com relação à distribuição dos ovos de *S. mansoni* na matéria fecal também existe divergência de opiniões entre os autores que estudaram o assunto. Alguns pesquisadores defendem a hipótese de que os ovos do trematódeo distribuem-se ao acaso nas fezes, sendo encontrados em quantidade semelhante em qualquer porção do bolo fecal^{4, 10, 12}. Todavia, existem relatos de que ocorreria concentração de ovos de *S. mansoni* na superfície e nas porções terminais do bolo fecal³, condicionando distribuição irregular nas amostras submetidas a exame coprológico. A existência de diferença estatisticamente significativa nos resultados da leitura de quatro lâminas preparadas, no mesmo dia, com amostra proveniente de um mesmo paciente e examinadas pelo mesmo microscopista, verificada no presente trabalho, não obstante o cuidado em homogenizar o material fecal (ver tabela 3), revela distribuição irregular dos ovos do parasita nas amostras examinadas, sugerindo que este fato alteraria o resultado de técnicas de exame quantitativo.

Outro aspecto que merece consideração é a grande variabilidade observada nos resultados obtidos por microscopistas diferentes ao examinarem a mesma preparação, em experimento cego, indicando que existem fatores subjetivos de erro quando se empregam técnicas quantitativas. Neste particular, aceitando-se como mais próxima do valor exato a contagem de ovos realizada pelo microscopista-padrão, é interessante notar que a variabilidade entre os resultados dos diversos microscopistas foi mais acentuada quando as fezes continham menor quantidade de ovos, conforme mostram as figuras 1 e 2, fato que pode resultar em superestimação da carga parasitária em levantamentos epidemiológicos.

Os resultados obtidos neste trabalho, ao indicarem flutuação entre o número de ovos de *S. mansoni* eliminados por um mesmo paciente quando acompanhado por vários dias consecutivos, além de revelarem grande variabilidade nos resultados de diversos microscopistas ao examinarem a mesma preparação, tornam patente as dificuldades que surgem, em condições de trabalho de campo, quando se pretende avaliar, por técnicas quantitativas, a intensidade de infecção esquistossomótica em uma população. Entretanto, a ocorrência de discordância insignificante com relação a resultados qualitativos, entre os quatro microscopistas, permite supor que é aceitável a confiabilidade de inquéritos coprológicos realizados pelo método de Kato, quando o objetivo é determinar os índices de prevalência de infecção por *S. mansoni* em população residente em área endêmica.

CHIEFFI, P.P.; MARQUES, R.M. & SIQUEIRA, J.G.V. — A test of the efficiency of the Kato-Katz thick-smear method for the parasitologic diagnosis of Manson schistosomiasis. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):23-30, 1981.

ABSTRACT: The variability in results of quantitative coprological examinations by the Kato-Katz thick-smear method was measured in 11 patients from a bilharziasis endemic area. All patients were infected by *Schistosoma mansoni* as shown by laboratory tests and they had not been subjected to specific therapy. During four weeks, stool specimens were daily collected from each patient. Four thick-smear slides of each stool specimen were prepared. Each smear was examined by four technicians who did not know which preparation they were examining. The total number of *S. mansoni* eggs laid by each patient was determined. The results were subjected to regression analysis which showed a significant difference among the rates of eggs eliminated daily by a given patient. However, the quantitative data, but not the qualitative data, furnished by the technicians varied significantly among them.

DESCRIPTORS: Manson schistosomiasis, parasitologic diagnosis; Kato-Katz thick-smear method, accuracy, variability; bilharziasis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARRETO, M.L.; SILVA, J.T.F.; MOTT, K.E. & LEHMAN JR., J.S. — Stability of faecal egg excretion in *Schistosoma mansoni* infection. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 72:181-7, 1978.
2. BERQUÓ, E. & MARQUES, R.M. — *Curso de análise de variância*. São Paulo, Faculdade de Higiene e Saúde Pública U.S.P., 1965.
3. BLAIR, D.M.; WEBER, M.C. & CLARKE, V.V. — Macroscopic and microscopic methods in the diagnosis of intestinal bilharziasis. *Cent. afr. J. Med.*, 15 (suppl.):2-8, 1969.
4. CHAIA, G.; CHAIA, A.B.; McAULLIFE, J.; KATZ, N. & GASPER, D. — Coprological diagnosis of schistosomiasis. III. Comparative study of quantitative methods. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 10:349-53, 1968.
5. CHIEFFI, P.P. & MARQUES, R.M. — Estudo crítico da coproscopia e valor da contagem de ovos no diagnóstico em massa da esquistossomose. In: CONFERÊNCIA NACIONAL DE SAÚDE, 6a, Brasília, 1977. *Anais*. [Rio de Janeiro, FSESP, 1978] p. 340-2.
6. COURA, J.R. & CONCEIÇÃO, M.J. — Estudo comparativo dos métodos de Lutz, Kato e Simões Barbosa no diagnóstico coprológico da esquistossomose mansoni. *Rev. Soc. bras. Med. trop.*, 8:153-8, 1974.
7. DANTAS, A.M.P. & FERREIRA, L.F. — Sobre o método de Kato no diagnóstico da esquistossomose mansoni. *Rev. Soc. bras. Med. trop.*, 7:209-12, 1973.
8. DOMINGUES, L.; SILVEIRA, M.; VANDERLEI, M.I. & KELNER, S. — Possíveis fatores que alteram os resultados da coprocopia quantitativa de ovos de *S. mansoni* pelo método de Kato-Katz. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 22:114-7, 1980.
9. HAIRSTON, N.G. — The dynamics of transmission. In: ANSARI, N., ed. — *Epidemiology and control of schistosomiasis (bilharziasis)*. Basel, Karger, 1973.
10. KATZ, N. & CHAIA, G. — Coprological diagnosis of schistosomiasis. I. Evaluation of quantitative techniques. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 10:295-8, 1968.
11. KATZ, N.; CHAVES, A. & PELLEGRINO, J. — A simple device for quantitative stool tick-smear technique in schistosomiasis mansoni. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 14:397-400, 1972.
12. MARTIN, L.K. & BEAVER, P.C. — Evaluation of Kato tick-smear technique for quantitative diagnosis of helminth infections. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 17:382-91, 1968.
13. McCULLOUGH, F.S. & BRADLEY, D.J. — Egg output stability and the epidemiology of *Schistosoma haematobium*. Part I. Variation and stability in *Schistosoma haematobium* egg counts. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 67:475-90, 1973.
14. MOLINA, J.G. — A técnica de Kato para o diagnóstico coprológico de infecções parasitárias. *Rev. Soc. bras. Med. trop.*, 5: 17-20, 1971.

CHIEFFI, P.P.; MARQUES, R.M. & SIQUEIRA, J.G.V. — Avaliação da eficácia do método de Kato-Katz no diagnóstico parasitológico da esquistossomose mansônica. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1): 23-30, 1981.

15. ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. Comité de expertos de la OMS en lucha contra la esquistosomiasis, Ginebra, 1972. *Lucha contra la esquistosomiasis*. Ginebra, 1973. Informe. [Ser. inf. técn. 515]
16. PESSÓA, S.B. — Aspectos comparativos entre a epidemiologia e a profilaxia da esquistossomose japônica na China e da esquistossomose mansônica no Brasil. *Rev. paul. Med.*, 55:101-22, 1959.

Recebido para publicação em 17 de novembro de 1980.

CONTAGEM DE FILAMENTOS MICELIANOS EM DOCES EM PASTA DE GOIABA, MARMELO, PÊSSEGO E FIGO, PELO MÉTODO DE HOWARD *

Claydes de Quadros ZAMBONI **
Helena Ide ALVES **
Marlene Correia dos SANTOS **

RIALA6/519

ZAMBONI, C.Q.; ALVES, H.I. & SANTOS, M.C. — Contagem de filamentos micelianos em doces em pasta de goiaba, marmelo, pêssego e figo, pelo método de Howard. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):31-35, 1981.

RESUMO: Foram analisadas 184 amostras de doces em pasta, sendo 83 de doces em pasta de goiaba, 54 de doces em pasta de marmelo, 32 de doces em pasta de pêssego e 15 de doces em pasta de figo. Foi utilizado o método de Howard para contagem de filamentos micelianos. Concluiu-se que 31,32% das amostras de goiabada apresentaram contagem superior a 50% de campos positivos com filamentos de cogumelos, o que caracterizou o uso de matéria-prima deteriorada. Verificou-se, também, que as marmeladas, as pessegadas e as figadas estavam em boas condições de higiene, com relação à quantidade de fungos. Foi proposta a necessidade da exigência pelo Código Brasileiro de Alimentos do Conselho Nacional de Saúde de limites de tolerância na contagem de filamentos micelianos em doces em pasta.

DESCRITORES: doces de fruta em pasta, figo (*Ficus carica*), goiaba (*Psidium guajava*), marmelo (*Pyrus cydonia*), pêssego (*Prunus persica*); fungos em doce de fruta em pasta; contagem de micélios pelo método de Howard.

INTRODUÇÃO

A legislação em vigor no Brasil para "Doces em pasta" exige, no item "Higiene", que os mesmos não apresentem fungos em quantidade que indique a utilização de ingredientes em condições insatisfatórias^{3, 6}.

Temos observado, em nosso trabalho de pesquisa, que a variação na quantidade de fungos no doce em pasta está relacionada com a espécie de fruta empregada na confecção dos mesmos. Por outro lado, podemos afirmar que em um mesmo tipo de doce esta variação está relacionada com a fábrica produtora.

A indústria de confecção de doces em pasta alega haver impossibilidade de se conseguir ausência total de fungos nestes produtos, uma vez que escapa ao controle a seleção perfeita dos frutos.

Diante destas assertivas, realizamos este trabalho com a finalidade de demonstrar quais os tipos de doces em pasta que apresentam maior contaminação por fungos, e propor um limite de tolerância na contagem dos filamentos micelianos.

MATERIAL E MÉTODO

Foram analisadas 184 amostras de doces em pasta, assim distribuídas:

Doces em pasta de goiaba	83
Doces em pasta de marmelo	54
Doces em pasta de pêssego	32
Doces em pasta de figo	15

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

As amostras foram colhidas pela Divisão de Alimentação Pública da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, nos diversos supermercados e mercearias da Capital de São Paulo, sendo, portanto, amostras do produto que normalmente é consumido pela população.

O método de Howard foi aplicado de acordo com o descrito no "Official Methods of Analysis" da A.O.A.C.²:

Pesar 7 g da amostra e estabilizar em 40 ml de solução de carboximetil-celulose, a 0,5%. Em seguida, fazer uma diluição na proporção de 1:5, para goiabada e marmelada, e de 1:4, para pessegada e figada, utilizando a solução de azul de algodão, a 0,1%, em lactofenol, como corante e diluente^{5,7}. Carregar a câmara de Howard e fazer as contagens dos filamentos de fungos.

Foi determinado analiticamente nas amostras o teor de sólidos solúveis, a fim de se poder calcular a diluição que deveria ser empregada. A concentração de sólidos solúveis foi

de, aproximadamente, 80 g por 100 g do produto nos doces de goiaba e marmelo, e de 70 g por 100 g nos doces de pêssego e figo; o teor de fruta foi de 60%.

RESULTADOS

Os resultados estão relacionados nas tabelas 1 e 2.

Se fixarmos como limite de tolerância 50% de campos positivos com filamentos de cogumelos, analogamente com extratos de tomate^{1,3}, vamos considerar:

aceitável — a unidade que apresenta, no máximo, 50% de campos positivos com micélios de fungos;

inaceitável — a unidade que apresenta acima de 50% de campos positivos com micélios de fungos.

TABELA 1

Campos positivos com filamentos de fungos em doces em pasta de goiaba

Campos positivos com filamentos de fungos (%)	Amostras analisadas	
	n.º	%
0 a 10	2	2,41
11 a 20	18	21,69
21 a 30	13	15,66
31 a 40	13	15,66
41 a 50	11	13,25
51 a 60	7	8,43
61 a 70	8	9,64
71 a 80	5	6,03
81 a 90	4	4,82
91 a 100	2	2,41
Total	83	—

TABELA 2

Campos positivos com filamentos de fungos em doces em pasta de marmelo, pêssego e figo

Campos positivos com filamentos de fungos %	Doces em pasta de marmelo		Doces em pasta de pêssego		Doces em pasta de figo	
	Amostras analisadas		Amostras analisadas		Amostras analisadas	
	n.º	%	n.º	%	n.º	%
0	3	5,55	4	12,50	2	13,33
2	10	18,52	11	34,37	3	20,00
4	3	5,55	6	18,75	1	6,67
6	7	12,96	4	12,50	4	26,66
8	11	20,37	2	6,25	1	6,67
10	10	18,52	0	0,00	3	20,00
11 a 20	8	14,82	4	12,50	1	6,67
21 a 30	2	3,71	1	3,13	0	0,00
Total	54	—	32	—	15	—

Classificando as unidades dos quatro doces como aceitáveis e inaceitáveis, encontramos, para os doces em pasta de goiaba, o resultado apresentado na tabela 3:

TABELA 3

Classificação dos doces em pasta de goiaba analisados, comparando com o padrão fixado de 50% de campos positivos com filamentos de fungos

Amostras	N.º
aceitáveis	57 (68,68%)
inaceitáveis	26 (31,32%)
Total	83

Os doces de marmelo, pêssego e figo apresentaram contagens inferiores a 30%, podendo ser considerados como 100% aceitáveis.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Em virtude dos resultados obtidos, podemos deduzir que os doces em pasta que se apresentam com maior quantidade de filamentos de fungos são as goiabadas, que estão sendo fabricadas com frutos de qualidade inferior.

Os frutos utilizados na produção da marmelada, pessegada e figada, em relação à quantidade de fungos, estão em condições de higiene satisfatórias.

Concluimos, portanto, que deve ser incluída nas normas da Câmara Técnica de Alimentos para "Doces em pasta" a exigência de contagem de filamentos de cogumelos, principalmente para as goiabadas, que apresentaram 31,32% de amostras inaceitáveis, quando se fixou o limite de tolerância de 50% de campos positivos com filamentos de cogumelos.

Propomos, portanto, o limite de 50% de campos positivos com filamentos de cogumelos para os doces em pasta, analogamente aos purês e extratos de tomate.

Agradecimentos

Agradecemos à Divisão de Alimentação Pública da Coordenadoria da Saúde da Comunidade pelo fornecimento das amostras e à Seção de Bebidas do Instituto "Adolfo Lutz" pela determinação dos sólidos solúveis totais nos doces em pasta.

RIALA6/519

ZAMBONI, C.Q.; ALVES, H.I. & SANTOS, M.C. — Mycelia filaments count in fruit jams of guava, quince, peach and fig by Howard method. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):53-55, 1981.

ABSTRACT — Howard method was employed for count mycelial filaments in commercial preserves such as 83 samples of guava jam, 54 of quince jam, 32 of peach jam and 15 samples of fig pasts. It was found that 31,3% of guava jam had over 50% of fields with mycella. The quince, peach and fig jam samples were in the accepted limits. It is proposed that the Brazilian Food Codex issued by the National Health Council fix limits to the acceptable number of mycelia filaments in fruit jams.

DESCRIPTORS: fruit jam, fig (*Ficus carica*), guava (*Psidium guajava*), peach (*Prunus persica*), quince (*Pyrus cydonia*); mold (fungus) in fruit jam; Howard mycelia count method.

ZAMBONI, C.Q.; ALVES, H.I. & SANTOS, M.C. — Contagem de filamentos micelianos em doces em pasta de goiaba, marmelo, pêssego e figo, pelo método de Howard. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):31-35, 1981.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMANAC of the canning, freezing, preserving industries. Westminster, Ma., Judge & Sons, 1978.
2. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS — *Official methods of analysis*. 12th ed. Washington, D.C., A.O.A.C., 1975. p. 883 (Tecn. 44.092).
3. BRASIL. Leis, decretos, etc. — Resolução normativa n.º 9/78. *Diário Oficial*, Brasília, 11 dez. 1978. Seção 1, pt. 1, p. 19825. Resolução normativa aprovada pela Câmara Técnica de Alimentos do Conselho Nacional de Saúde no mês de outubro de 1978.
4. FUNGI associated with food decomposition. *FDA by-lines*, 5:117-35, 1974.
5. PADRON, G.J. & MENEZES JÚNIOR, J.B.F. — Contribuição ao estudo e à aplicação do método de Howard nas contagens de cogumelos dos produtos de tomate. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 8:99-136, 1948.
6. SÃO PAULO. Leis, decretos, etc. — Decreto 12.486, de 20 de outubro de 1978. *Diário Oficial*, São Paulo, 21 out. 1978. p. 13 (NTA 28). Aprova normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas.
7. SOUTO, A.B. — Investigações sobre produtos de tomate. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 2: 100-79, 1942.
8. TOWSEND, C.T. — *A laboratory manual for the canning industry*. 2nd ed. Washington, D.C., Nac. Canners Ass., 1956. p. 14-21.

Recebido para publicação em 4 de fevereiro de 1981.

ISOLAMENTO DE *ESCHERICHIA COLI* INVASORA, EM SÃO PAULO, NO PERÍODO DE JUNHO DE 1978 A DEZEMBRO DE 1980

Elena KANO **
Ethel Sandoval PEIXOTO **
Luiza Maria GONÇALVES **
Chifumi Takeuchi CALZADA **
Gil Vital Álvares PESSOA **

RIALA6/520

KANO, E.; PEIXOTO, E.S.; GONÇALVES, L.M.; CALZADA, C.T. & PESSÓA, G.V.A. — Isolamento de *Escherichia coli* invasora, em São Paulo, no período de junho de 1978 a dezembro de 1980. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):37-41, 1981.

RESUMO: É relatada a ocorrência de *Escherichia coli* invasora, a partir de coproculturas provenientes da cidade de São Paulo, Brasil, de junho de 1978 a dezembro de 1980, realizadas na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz. Foram isoladas 32 cepas pertencentes aos sorogrupos: 028a,c (37,6%); 0136 (18,7%); 0124 (15,6%); 0152 (12,5%); 029 (9,4%); 0143 (6,2%). Foi verificada em seis oportunidades infecção dupla: *E. coli* 0136 + *E. coli* 0143; *E. coli* 0136 + *E. coli* 0127K63; *E. coli* 028a,c + *E. coli* 086:K61; *E. coli* 0124 + *S. oranienburg*; *E. coli* 029 + *S. agona*; *E. coli* 0152 + *Salmonella typhi*.

DESCRITORES: infecções por *Escherichia coli* invasora, São Paulo, Brasil.

INTRODUÇÃO

A importância de *Escherichia coli* invasora como agente etiológico de infecções intestinais, tanto em crianças como em adultos, tem sido ressaltada por vários autores^{2, 6, 9, 10, 11}.

As linhagens invasoras de *E. coli* provocam um quadro diarreico agudo semelhante ao das shigeloses. A capacidade invasora é demonstrada pelo teste de Serény⁷ cuja positividade permite o reconhecimento das estirpes invasoras de *E. coli*^{2, 6, 9, 10, 11} anteriormente confundidas com as pertencentes à microbiota normal do intestino.

Apesar da patogenicidade comprovada da *E. coli* invasora, tanto em crianças como em adultos^{2, 6, 9, 10, 11}, este agente etiológico só começou a ser pesquisado, na rotina de coprocultura da Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, a partir de 1978.

MATERIAL E MÉTODOS

As fezes provenientes de Centros de Saúde e de Hospitais foram manipuladas de acordo com a metodologia utilizada na rotina do Setor de Enterobactérias da Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz³. As cepas que, no meio IAL⁵ de diagnóstico presuntivo, apresentavam comportamento bioquímico compatível com o de *E. coli* não descarboxiladora da L-lisina, suspeitas de serem *E. coli* invasoras, foram selecionadas por testes bioquímicos complementares (tabela 2) e submetidas a testes sorológicos.

A confirmação sorológica foi feita, em placa de Hudeson, com o crescimento bacteriano, utilizando soros polivalentes que contêm os 11 anti-soros conhecidos (028a,c; 029; 042; 0112a,c; 0124; 0136; 0143; 0144; 0152; 0164; *E. coli* São Paulo). Na presença de agluti-

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

nação, a reação foi repetida com os respectivos anti-soros monovalentes.

Para confirmação do diagnóstico foi realizada titulação em tubo com o antígeno fervido a 100°C, durante 1 hora¹.

A capacidade invasora das cepas que foram identificadas por testes bioquímicos e testes sorológicos, como pertencentes aos sorogrupos de *E. coli* invasoras, foi verificada através do teste de Serény⁷. Este teste foi realizado instilando-se no olho de cobaia albino de 0,05 a 0,1 ml da suspensão bacteriana em solução fisiológica, a partir do crescimento no meio

base ágar-sangue. O animal foi observado diariamente durante sete dias. O teste foi considerado positivo quando houve a formação de cerato-conjuntivite e recuperação da amostra inoculada em cultura pura, a partir da secreção ocular.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os sorogrupos isolados 028a,c; 0136; 0124; 0152; 029 e 0143 encontram-se discriminados na tabela 1, sendo o sorogrupo 028a,c predominante, responsável por 37,6% dos achados.

TABELA 1

Distribuição e percentual dos sorogrupos de *Escherichia coli* invasora isolados na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, no período de 1978 a 1980, e idade dos pacientes

Sorogrupos (percentagem)	Amostra IAL n.º	Idade dos pacientes
<i>E. coli</i> 028 a,c (37,6%)	2946/78	34 anos
	2971/78	3 anos
	355/79	9 anos
	1290/79	5 meses
	1475/79	1 ano e 3 meses
	344/80	31 anos
	1023/80	4 meses
	1093/80	2 anos
	2033/80	6 anos
	2057/80	34 anos
	1276/80 *	desconhecida
08/80	2 meses	
<i>E. coli</i> 0136 (18,7%)	176/79	34 anos
	47/79	3 anos
	288/80	5 meses
	1227/80 *	desconhecida
	2527/80	6 anos
<i>E. coli</i> 0124 (15,6%)	2764/80	26 anos
	2182/79	35 anos
	2050/80	16 anos
	189/80 **	21 anos
<i>E. coli</i> 0152 (12,5%)	55/80	6 anos
	244/81	37 anos
	3504/78	15 anos
	1654/79	10 anos
<i>E. coli</i> 029 (9,4%)	34/81	5 anos
	35/81	desconhecida
	890/78	54 anos
	2039/80	42 anos
<i>E. coli</i> 0143 (6,2%)	292/81	2 anos e 10 meses
	2527/80	6 anos
	232/81	2 anos

* Cepas identificadas no Laboratório Central do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, isoladas no Hospital das Clínicas da USP.

** Cepas identificadas no Laboratório Central do Instituto Adolfo Lutz, isoladas no Laboratório I do Instituto Adolfo Lutz, Santos, SP.

TABELA 2

Comportamento bioquímico das linhagens de *E. coli* invasoras isoladas no período de 1978 a 1980 na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz

Teste ou substrato	<i>E. coli</i> 28 a,c (12 amostras)		<i>E. coli</i> 136 (6 amostras)		<i>E. coli</i> 124 (5 amostras)		<i>E. coli</i> 152 (4 amostras)		<i>E. coli</i> 29 (3 amostras)		<i>E. coli</i> 143 (2 amostras)	
	Sinal	Positividade (%)	Sinal	Positividade (%)	Sinal	Positividade (%)	Sinal	Positividade (%)	Sinal	Positividade (%)	Sinal	Positividade (%)
Glicose (ácido)	+	100	+	100	+	100	+	100	+	100	+	100
Glicose (gás)	-	0	+	100	+	100	+	100	+	100	+	100
Lactose	+	100	-	0	-	0	-	0	+	100	+	100
Sacarose	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0
Xilose	+	100	+	100	+	100	+	100	-	0	+	100
L-lisina descarboxilase	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0
L-ornitina descarboxilase	+	58,3	+	100	-	0	-	0	+	100	-	0
Acetato de sódio	+	25,0	+	33,3	+	100	+	100	-	0	-	0
Citrato de sódio (Simmons)	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0
Indol	+	100	+	100	+	100	+	100	+	100	+	100
L-triptofano desaminase	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0
Teste ONPG *	+	100	+	100	+	100	+	100	+	100	+	100
Urease	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0
H ₂ S	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0
Motilidade	-	0	-	0	+	60	-	0	-	0	-	0

* ONPG = σ -nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo.

KANO, E.; PEIXOTO, E.S.; GONÇALVES, L.M.; CALZADA, C.T. & PESSOA, G.V.A. — Isolamento de *Escherichia coli* invasora, em São Paulo, no período de junho de 1978 a dezembro de 1980. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 41(1):37-41, 1981.

KANO, E.; PEIXOTO, E.S.; GONÇALVES, L.M.; CALZADA, C.T. & PESSÓA, G.V.A. — Isolamento de *Escherichia coli* invasora, em São Paulo, no período de junho de 1978 a dezembro de 1980. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):37-41, 1981.

TABELA 3

Infecções múltiplas relacionadas à *Escherichia coli* invasora ocorridas no período de 1978 a 1980 e identificadas na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz

Amostra IAL n.º	Bactérias enteropatogênicas
2527/80	<i>E. coli</i> 0136 + <i>E. coli</i> 0143
288/80	<i>E. coli</i> 0136 + <i>E. coli</i> 0127:K63
1290/79	<i>E. coli</i> 028 a,c + <i>E. coli</i> 086:K61
55/80	<i>E. coli</i> 0124 + <i>Salmonella oranienburg</i>
2039/80	<i>E. coli</i> 029 + <i>Salmonella agona</i>
1654/79	<i>E. coli</i> 0152 + <i>Salmonella typhi</i>

Na tabela 2 encontra-se o perfil bioquímico apresentado pelas 32 cepas de *E. coli* invasoras.

SILVA *et alii*³ analisaram as características bioquímicas e sorológicas de 97 cepas isoladas em São Paulo, relatando a ocorrência de 9 sorogrupos dos 11 conhecidos.

Na pesquisa efetuada foram isolados 6 sorogrupos em 32 casos positivos; entretanto, houve diferença marcante no sorogrupo predominante, pois o sorogrupo 028a,c, corresponde a mais de 1/3 dos isolamentos, enquanto que no trabalho de SILVA *et alii* este sorogrupo corresponde a apenas 14% do total.

É digno de nota o encontro de seis casos de infecção dupla, demonstrados na tabela 3, que correspondem a 18,7% do total de casos positivos.

O encontro de infecção dupla, em alto percentual, semelhante àquele por nós relatado em trabalho anterior⁴, demonstra a importância do emprego de uma metodologia adequada, na rotina de coprocultura.

Agradecimentos

Nossos agradecimentos aos Professores Dr. Luiz Rachid Trabulsi e Dra. Maria Regina Fernandes Toledo pela orientação no preparo dos anti-soros.

RIALA6/520

KANO, E.; PEIXOTO, E.S.; GONÇALVES, L. M.; CALZADA, C.T. & PESSÓA, G.V.A. — Isolation of invasive *Escherichia coli* in São Paulo City from June 1978 to december 1980. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):37-41, 1981.

ABSTRACT: The occurrence of invasive *Escherichia coli* was disclosed in stool specimens collected in São Paulo City, Brazil, during the period from June 1978 to December 1980. Thirty two strains were isolated which belonged to the serogroups: 028 a,c (37.6%); 0136 (18.7%); 0124 (15.6%); 0152 (12.5%); 029 (9.4%); 0143 (6.2%). Double infections were observed on six occasions: *E. coli* 0136 + *E. coli* 0143; *E. coli* 0136 + *E. coli* 0127K63; *E. coli* 028a,c + *E. coli* 086:K61; *E. coli* 0124 + *S. oranienburg*; *E. coli* 029 + *S. agona*; *E. coli* 0152 + *Salmonella typhi*.

DESCRIPTORS: *Escherichia coli* infections, São Paulo, Brazil. *E. coli*, invasive strain.

KANO, E.; PEIXOTO, E.S.; GONÇALVES, L.M.; CALZADA, C.T. & PESSÓA, G.V.A. — Isolamento de *Escherichia coli* invasora, em São Paulo, no período de junho de 1978 a dezembro de 1980. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):37-41, 1981.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. EDWARDS, P.R. & EWING, W.H. — *Identification of Enterobacteriaceae*. 3rd ed. Minneapolis, Burgess public., c1972.
2. OGAWA, W.; NAKAMURA, A. & SAKAZAKI, R. — Pathogenic properties of "enteropathogenic" *Escherichia coli* from diarrheal children and adults. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, 21:333-49, 1968.
3. PESSÓA, G.V.A.; IRINO, K.; CALZADA, C.T.; MELLEES, 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.
4. PESSÓA, G.V.A.; IRINO, K.; MELLEES, C.E.A.; CALZADA, C.T.; KANO, E. & SIMONSEN, V. — Ocorrência de bactérias enteropatogênicas em São Paulo no septênio 1970-76. IV — Infecções entéricas múltiplas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38:141-56, 1978.
5. PESSÓA, G.V.A. & SILVA, E.A.M. — Milieu pour l'identification présomptive rapide des entérobactéries, des aeromonas et des vibrions. *Ann. Microbiol. Paris*, 125A: 341-347, 1974.
6. SAKAZAKI, R.; TAMURA, K. & SAITO, M. — Enteropathogenic *Escherichia coli* associated with diarrhea in children and adults. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, 20:387-99, 1967.
7. SERÉNY, B. — Experimental *Shigella* keratoconjunctivitis. A preliminary report. *Acta microbiol. Acad. Sci. Hung.*, 2:293-6, 1955.
8. SILVA, R.M.; TOLEDO, M.R.F. & TRABULSI, L.R. — Biochemical and cultural characteristics of invasive *Escherichia coli*. *J. clin. Microbiol.*, 11:441-4, 1980.
9. TOLEDO, M.R.F.; REIS, M.H.L.; ALMEIDA, R.G. & TRABULSI, L.R. — Invasive strain of *Escherichia coli* belonging to O group 29. *J. clin. Microbiol.*, 9:288-9, 1979.
10. TOLEDO, M.R.F.; REIS, M.H.L. & TRABULSI, L.R. — New invasive *Escherichia coli* strain. *J. clin. Microbiol.*, 11:422-3, 1980.
11. TRABULSI, L.R.; FERNANDES, M.R.F. & ZULIANI, M.E. — Novas bactérias patogênicas para o intestino do homem. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 9:31-9, 1967.

Recebido para publicação em 23 de fevereiro de 1981.

SHIGELLA BOYDII 9 RÁPIDA FERMENTADORA DA LACTOSE *

Chifumi Takeuchi CALZADA **
Elena KANO **
Suzel NOGUEIRA **
Henry Inácio Zanevan REQUEJO **
Luiza Maria GONÇALVES **
Gil Vital Álvares PESSÔA **

RIAL46/521

CALZADA, C.T.; KANO, E.; NOGUEIRA, S.; REQUEJO, H.I.Z.; GONÇALVES, L.M. & PESSÔA, G.V.A. — *Shigella boydii* 9 rápida fermentadora da lactose. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):43-46, 1981.

RESUMO: É relatado pela primeira vez no Brasil o isolamento de uma cepa de *Shigella boydii* 9, rápida fermentadora da lactose.

DESCRITORES: *Shigella*; *Shigella boydii* 9, rápida fermentadora da lactose.

INTRODUÇÃO

Em janeiro de 1980 foi isolada da coprocultura de uma criança diarréica, com dois anos de idade, uma cepa de *Shigella boydii* que, nos meios diferenciais, era rápida fermentadora da lactose. Esta amostra apresentou perfil bioquímico e sorológico compatível com *Shigella boydii* 9, diferenciando-se do sorotipo normal pela fermentação rápida deste dissacarídeo.

COURTOIS & VANDEPITTE¹, em 1949, isolaram no Congo três cepas que se comportaram antigenicamente como *S. boydii* 9, mas que também produziam rapidamente ácido da lactose. EDWARDS & EWING² sugeriram que estas cepas fossem consideradas como cepas aberrantes lactose positivas de *S. boydii* 9, uma vez que diferiam do sorotipo normal somente pela rápida fermentação da lactose.

É importante assinalar o comportamento atípico desta cepa por ser a primeira vez em que ocorre em nosso meio e porque, com frequência, amostras de *Shigella* sp. e de *Escherichia coli* apresentam perfil bioquímico semelhante nos meios de diagnóstico presuntivo,

não sendo raro ocorrerem reações sorológicas cruzadas entre os componentes desses dois gêneros^{3, 4, 5, 6}.

MATERIAL E MÉTODOS

A cepa foi isolada de coprocultura de doente diarréico e recebeu o número IAL-333/80. Nos meios diferenciais apresentou-se como rápida fermentadora da lactose e com perfil bioquímico compatível com *Shigella* sp.

A sorotipagem em lâmina, realizada com anti-soros polivalentes e tipo-específicos, foi positiva para *S. boydii* 9.

As titulações realizadas em tubo com a cepa IAL-333/80, e com o anti-soro preparado com cepa padrão *S. boydii* 9 do Instituto Pasteur de Paris (IP-76), demonstraram a identidade do título. Este anti-soro também foi totalmente absorvido pela cepa IAL-333/80; o anti-soro preparado com a mesma cepa também foi totalmente absorvido pela amostra padrão IP-76 (tabela 2).

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

TABELA 1

Perfil bioquímico de Shigella boydii 9
(IAL-333/80)

Lactose	+
Glicose/gás	+/-
Sacarose	-
Manitol	+
Xilose	-
Indol	+
Motilidade	-
Teste de Sereny	+
Lisina descarboxilase	-
Ornitina descarboxilase	-
L. triptofano desaminase	-
H ₂ S	-
Urease	-
Acetato de sódio	-
Citrato de Simmons	-

Observação: testes positivos em 24 horas, negativos até 7 dias.

As reações de aglutinação em tubo do anti-soro preparado com a cepa IAL-333/80 contra os antígenos preparados com as amostras padrões de *S. boydii* apresentaram os resultados espelhados na tabela 3, que estão de acordo com o que normalmente ocorre entre os membros do grupo.

RESULTADOS E CONCLUSÃO

A absorção total recíproca dos respectivos anti-soros pelos antígenos correspondentes (tabela 2) demonstra a identidade antigênica da cepa IAL-333/80 com *S. boydii* 9.

Os resultados obtidos na tabela 3 são semelhantes aos relatados por Edward & Ewing. A cepa IAL-333/80 apresentou reações cruzadas com os sorotipos de *S. boydii* 4, 5 e 13, praticamente nas mesmas diluições que foram encontradas pelos referidos autores.

A análise dos resultados obtidos indica que a cepa IAL-333/80 é uma cepa aberrante de *S. boydii* 9.

TABELA 2

Reações de aglutinação em tubo entre S. boydii 9, padrão IP-76, e cepa IAL-333/80

Anti-soro \ Antígeno	IP-76 Não absorvido	IAL-333/80 não absorvido	IP-76 absorvido com IAL-333/80	IAL-333/80 absorvido com IP-76
IP-76	1/1 280	1/5 120	0	0
IAL-333/80	1/1 280	1/5 120	0	0

TABELA 3

Reações de aglutinação* do anti-soro IAL-333/80 com cepas padrões de *Shigella boydii*

Antígeno Anti-soro IAL-333/80	Antígeno														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1/10	0	0	0	4	2	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0
1/20	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0
1/40	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0
1/80	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0
1/160	0	0	0	2	0	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0
1/320	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0
1/640	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	2	0	0
1/1 280	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0
1/2 560	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0
1/5 120	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
1/10 240	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
1/20 480	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* Observação: 0, 1, 2, 3, 4 (cruzes) indicam as intensidades de aglutinação.

RIALA6/521

CALZADA, C.T.; KANO, E.; NOGUEIRA, S.; REQUEJO, H.I.Z.; GONÇALVES, L.M. & PESSÓA, G.V.A. — Isolation of a strain of fast lactose-fermenting *Shigella boydii* 9. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):43-46, 1981.

ABSTRACT: For the first time in Brazil, a fast lactose-fermenting strain of *Shigella boydii* 9 is isolated.

DESCRIPTORS: *Shigella*; *Shigella boydii* 9, fast lactose fermenting.

CALZADA, C.T.; KANO, E.; NOGUEIRA, S.; REQUEJO, H.I.Z.; GONÇALVES, L.M. & PESSÓA, G.V.A. — *Shigella boydii* 9 rápida fermentadora da lactose. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):43-46, 1981.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COURTOIS, Gh. & VANDEPITTE, J. — Un nouveau sérotype de *Shigella paradysenteriae* type 112 de Cox et Wallace. *Ann. Soc. Belge Méd. trop.*, 30:149-54, 1950.
2. EDWARDS, P.R. & EWING, W.H. — *Identification of Enterobacteriaceae*. 3rd ed. Minneapolis, Burgess publ., c1972. p. 132.
3. EWING, W.H. — Serological relationships between *Shigella* and coliform cultures. *J. Bacteriol.*, 66:333-40, 1953.
4. KAUFFMANN, F. — *The bacteriology of Enterobacteriaceae*. Copenhagen, Munksgaard, 1966. p. 19-54.
5. 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.
6. TAUNAY, A.E. — Bacteriologia das shigeloses. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 11:49-102, 1951.

Recebido para publicação em 27 de fevereiro de 1981.

AVALIAÇÃO DO BIODETO DE MERCÚRIO COMO PRESERVATIVO DE MATERIAL BIOLÓGICO*

Priscilla Rangel de AGUIAR **
Vitória Régia VENTURA **
Inaiá Heloísa Villares BURKART ***
João Araújo do NASCIMENTO **
Ivete Aparecida Rodrigues de LIMA **
Sansão da Rocha WESTPHALEN **

RIALAG/522

AGUIAR, P.R.; VENTURA, V.R.; BURKART, I.H.V.; NASCIMENTO, J.A.; LIMA, I.A.R. & WESTPHALEN, S.R. — Avaliação do biodeto de mercúrio como preservativo de material biológico. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):47-52, 1981.

RESUMO: Foi feita uma avaliação do biodeto de mercúrio (HgI_2) como preservativo de material biológico, tendo em vista a sua capacidade de conservação por longo tempo, e a propriedade de não aglutinar partículas. Ao sedimento obtido de 400 amostras de fezes acrescentou-se o iodo-mercurato de potássio a 0,2%, preparado com formol, álcool e soluto fisiológico, na proporção de três partes de conservante para uma parte de sedimento. Numa segunda etapa empregou-se o conservante a 0,1%, preparado com benzeno, álcool, e soluto fisiológico isotônico. Como controles utilizaram-se os conservantes de Railliet & Henry, o MIF (mertiolato, iodo e formol) e o de Schaudinn. Os resultados avaliados após seis meses revelaram que o iodo-mercurato de potássio a 0,2% (primeira fórmula) preservou adequadamente cistos e trofozoítos de protozoários, além de ovos e exemplares adultos de helmintos, com exceção dos ovos de *Hymenolepis nana* e *Hymenolepis diminuta*, que se apresentaram mais bem conservados usando a segunda fórmula. Resultados semelhantes obtiveram-se com os controles, evidenciando-se o iodo-mercurato de potássio pela propriedade de não aglutinar as partículas de fezes.

DESCRIPTORIOS: preservativo de material biológico, biodeto de mercúrio (HgI_2); biodeto de mercúrio como preservativo de material biológico; fezes, preservativo de material biológico.

INTRODUÇÃO

Os preservativos de material biológico em fezes têm grande importância na rotina de um laboratório de Parasitologia por conservarem as amostras para exame posterior e facilitarem a seleção de espécimes para fins didáticos.

Com o objetivo de obter-se um preservativo que, além de ser de fácil preparo e econô-

mico, possua a capacidade de conservar protozoários e helmintos (ovos e exemplares adultos), testou-se o complexo de iodo-mercurato de potássio em solução na concentração de 0,1 e 0,2%.

O biodeto de mercúrio já havia sido usado por WALTER³, em 1932, como preservativo de catgute, tendo-o empregado JUNOD⁴, em 1972, em solução concentrada, numa técnica para facilitar a detecção de trofozoítos de amebas intestinais.

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Bolsista. Instituto Adolfo Lutz.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados os sedimentos (método de Hoffman, Pons & Janer³) de 400 amostras de fezes durante um período de 6 meses. Diariamente, após a constatação de positividade para cistos de protozoários e ovos de helmintos, coletamos de 10 a 20 amostras de fezes, cujos sedimentos eram lavados por centrifugação e distribuídos em recipientes de 15 a 30 ml, até completar as 400 amostras.

O conservante foi utilizado na proporção de três partes para uma parte do sedimento.

Preparou-se o iodo-mercurato de potássio, segundo a fórmula seguinte:

Biiodeto de mercúrio	2 g
Iodeto de potássio	2 g
Formol a 40%	5 ml
Alcool a 99,5°GL	500 ml
Solução fisiológica a 0,85% q.s.p.	1.000 ml

Como controles foram utilizados os líquidos de Railliet & Henry³, de MIF (mertiolato, iodo e formol)⁷, e o fixador de Schaudinn, modificado⁸.

Após cada adição do conservante, agitava-se para homogeneizar, tirava-se uma porção do material com pipeta Pasteur para lâmina e, após cobrir com lamínula, levava-se para exame microscópico; paralelamente em outra porção do mesmo material juntava-se uma gota de Lugol¹ e, após completa mistura com o auxílio da própria lamínula, examinava-se ao fotomicroscópio II Zeiss para fotografia.

Fezes diarréicas, positivas para trofozoítos de protozoários, eram coadas através de gaze dobrada quatro vezes, antes da adição do conservante, na mesma proporção descrita acima.

Em outras alíquotas dos mesmos sedimentos juntamos os controles na proporção de uma parte de sedimento para três de cada conservante-controle.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O exame microscópico das amostras mostrou que os ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis*, *Ancylostomidae*, *Taenia* sp. e *Schistosoma mansoni* conservaram-se em ótimas condições, para exame posterior durante pelo menos seis meses, com o iodo-mercurato de potássio a 0,2% (fig. 1a, b, c, f, g, h).

Exemplares adultos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e *Enterobius vermicularis*, mantidos na solução conservadora referida, por seis meses, não apresentam quaisquer sinais de degeneração.

Os cistos de *Isospora belli* são facilmente detectados no material conservado, tanto pelo

exame direto, como após o uso do método de Faust² (fig. 2d).

Os cistos de protozoários (fig. 2a, b, c, d) mostram nitidamente os núcleos, as estruturas nucleares e os elementos citoplasmáticos, enquanto nos trofozoítos de amebas (*Entamoeba histolytica*) nota-se, sem dificuldade, a diferenciação entre ectoplasma hialino e endoplasma granuloso (fig. 2b).

Nos trofozoítos e cistos de flagelados, os flagelos são bem visíveis (fig. 2c). Bactérias ingeridas por trofozoítos de *Entamoeba coli* aparecem bem distintas no citoplasma vacuolizado (fig. 2a).

Os cristais de Charcot-Leyden são facilmente detectados. Os detritos fecais mostram-se transparentes e corados de amarelo-claro ou amarelo pardacento nas amostras em que se juntou a solução de Lugol no momento da leitura microscópica.

Após seis meses de preservação, parece ocorrer gradativa deterioração porém, nas amostras com alta concentração de ovos e cistos, o diagnóstico específico mantém-se satisfatório.

Entretanto, com ovos de *Hymenolepis nana* e de *Hymenolepis diminuta*, não obtivemos bons resultados quando utilizamos o biiodeto de mercúrio em concentração de 0,2%. Todavia, quando empregamos o biiodeto de mercúrio a 0,1% (segunda solução), obtivemos bons resultados para todos os ovos de helmintos e principalmente para os ovos de *Hymenolepis diminuta* e de *Hymenolepis nana* (fig. 1d, e). Neste caso, contudo, não houve boa preservação de cistos e trofozoítos de protozoários.

O iodo-mercurato de potássio não aglutinou as partículas, o que favoreceu na identificação dos trofozoítos e cistos de protozoários, bem como na de ovos de helmintos.

Em outras alíquotas dos mesmos sedimentos, juntamos os controles na proporção de uma parte do sedimento para três de cada conservante controle, examinando-os ao microscópio nas mesmas condições do conservante testado, com exceção das amostras fixadas pelo Schaudinn, que foram examinadas sem adição de solução de Lugol.

Mensalmente examinávamos ao microscópio porções de todas as amostras conservadas, quer pelo exame direto ou após aplicar os métodos de Faust² e de Ritchie⁶.

As amostras preservadas que continham trofozoítos de protozoários foram lavadas por centrifugação a 500 rpm, durante 1 minuto, duas a três vezes, antes do exame ao microscópio. Os espécimes adultos, separados das fezes, eram lavados em água corrente, depois em solução fisiológica e, em seguida, eram colocados em recipientes de boca larga dentro dos quais se colocava o conservante de maneira

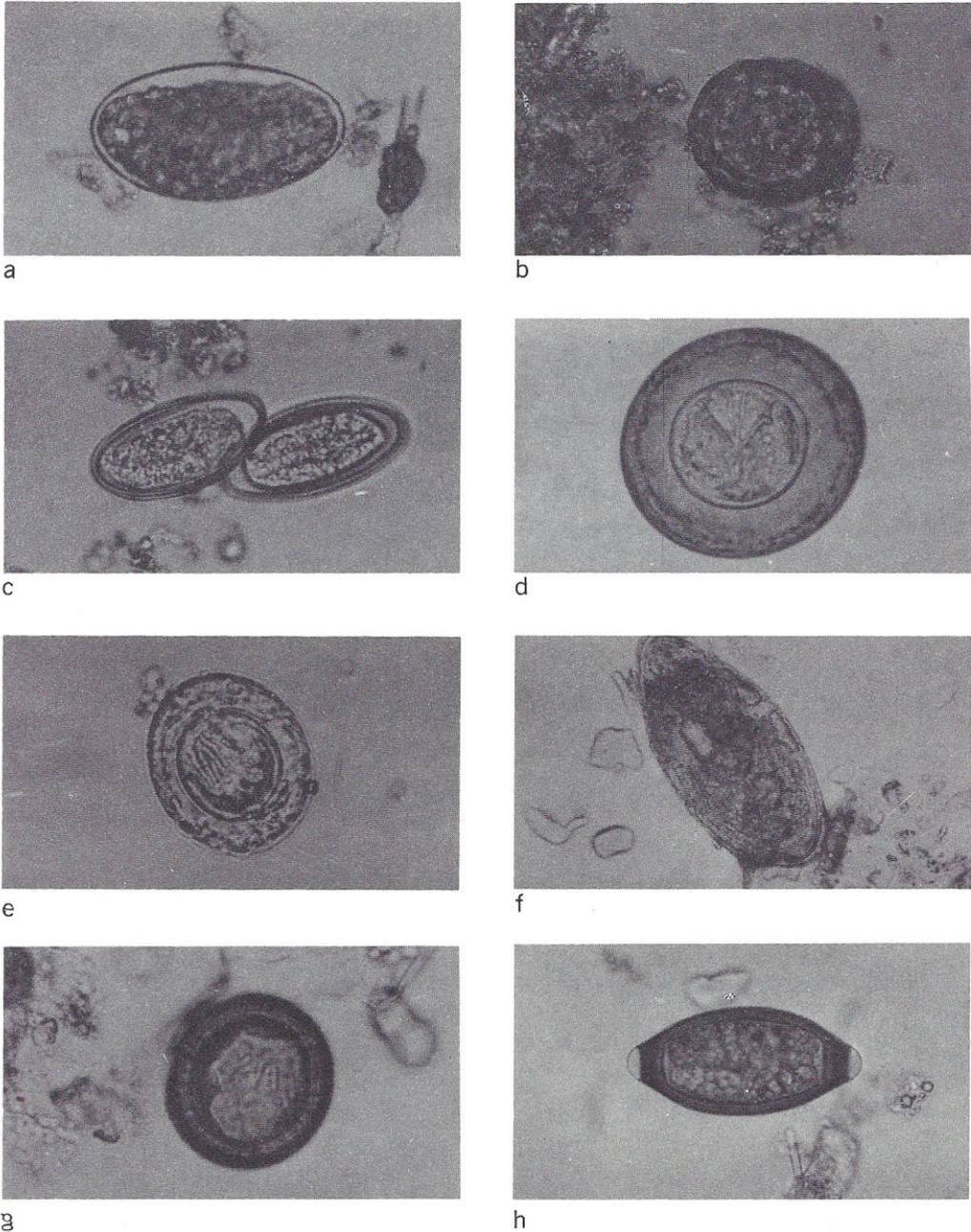


FIGURA 1 — Helmintos

a) Ovo de *Ancylostomidae*; b) ovo de *Ascaris lumbricoides*; c) ovos de *Enterobius vermicularis*; d) ovo de *Hymenolepis diminuta*; e) ovo de *Hymenolepis nana*; f) ovo de *Schistosoma mansoni*; g) ovo de *Taenia* sp.; h) ovo de *Trichuris trichiura*. Com aumento.

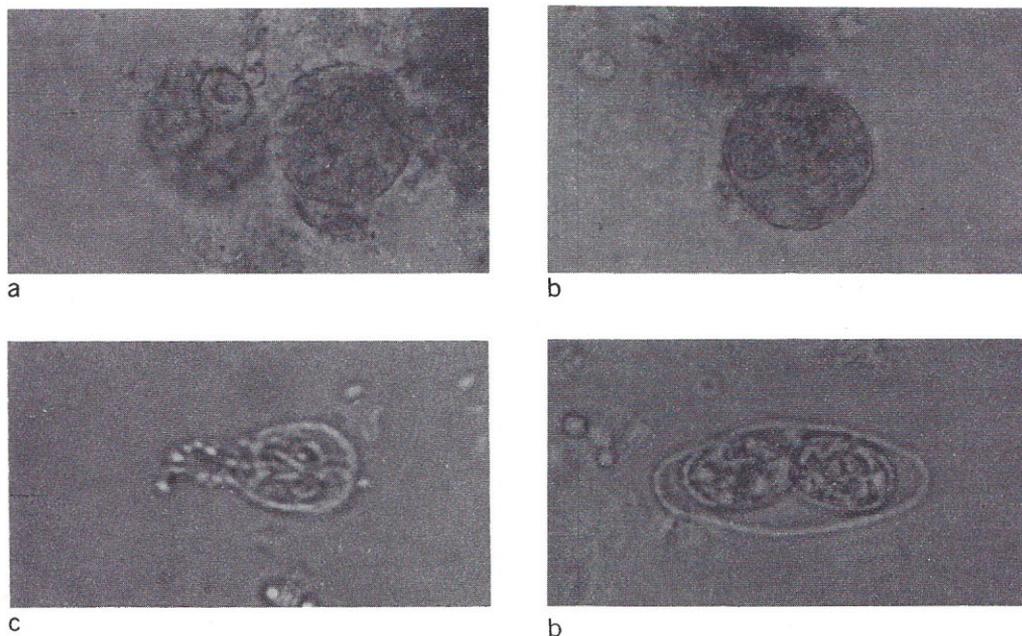


FIGURA 2 — Protozoários

- a) Trofozoítos de *Entamoeba coli* e de *Entamoeba histolytica*; b) trofozoíto de *Entamoeba histolytica*; c) trofozoíto de *Giardia lamblia*; d) oocisto de *Isospora belli*. Com aumento.

a cobri-los totalmente, tampando-se os recipientes com rolha esmerilhada.

Em uma segunda etapa, testou-se o iodo-mercurato de potássio preparado, usando-se a seguinte fórmula:

Biiodeto de mercúrio	1 g
Iodeto de potássio	1,5 g
Benzeno	10 ml
Álcool a 99,5°GL	600 ml
Sol. fisiológica a 0,85% q.s.p. ..	1.000 ml

Foram feitas observações microscópicas, tendo sido verificado que as estruturas do material preservado ainda se mantinham em perfeito estado de conservação após um período de seis meses.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem aos autores sugerir o emprego do iodo-mercurato de potássio, a 0,2%, com formol na preservação de cistos e trofozoítos de protozoários e de ovos e espécimes adultos de helmintos, reservando-se o uso de iodo-mercurato de potássio, a 0,1%, com benzeno, para preservação dos ovos de *Hymenolepis diminuta*.

O iodo-mercurato de potássio apresentou a vantagem de não aglutinar as partículas, favorecendo sobremaneira a detecção dos parasitas nas fezes.

Agradecimentos

Nossos agradecimentos ao Dr. Pedro Paulo Chieffi, Diretor do Serviço de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz, pela colaboração prestada na execução deste trabalho.

RIALA6/522

AGUIAR, P.R.; VENTURA, V.R.; BURKART, I.H.V.; NASCIMENTO, J.A.; LIMA, I.A.R. & WESTPHALEN, S.R. — Evaluation of mercury bi-iodide as preservative of biological samples. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):47-52, 1981.

ABSTRACT: In order to evaluate the mercury bi-iodide (HgI_2) as a preservative, this chemical was studied regarding its ability to preserve biological material and to avoid agglutination of particles. To the sediment obtained from 400 stool specimens, mercuric potassium iodide was dissolved in formaldehyde, alcohol and physiologic saline solution, at a concentration of 0.2%. To one volume of fecal sediment, three volumes of the preservative were added in each of 400 stool specimens. The experiment was repeated using, this time, 0.1% of the preservative prepared with benzene, alcohol and isotonic saline solution. The results were compared with those obtained with standard preservatives such as Railliet and Henry, Schaudinn and MIF (merthiolate, iodine and formaldehyde). Observations done after six months revealed that 0.2% mercuric potassium iodide solution (first method) suitably preserved cysts and trophozoites of protozoa as well as eggs and adult worms of helminths, except eggs of *Hymenolepis nana* and *Hymenolepis diminuta*, which demonstrated better preservation when the second method was employed. The controls presented similar results. It was found that mercuric potassium iodide does not agglutinate stool particles.

DESCRIPTORS: preservative, biologic sample; mercury bi-iodide (HgI_2) as biologic sample preservative; feces, biologic sample preservative.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CRAIG, C.F. — *Laboratory diagnosis of protozoan diseases*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1942. p. 45.
2. FAUST, E.C.; D'ANTONI, J.S.; ODOM, V.; MILLER, M.J.; PERES, C.; SAWITZ, W.; THOMEN, L.F.; TOBIE, J. & WALKER, J.H. — A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. I. Preliminary communication. *Amer. J. trop. Med.*, 18:169-83, 1938.
3. HOFFMAN, W.A.; PONS, S.A. & JANER, J.L. — The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. *Puerto Rico J. publ. Hlth trop. Med.*, 9:283-98, 1934.
4. JUNOD, CH. — Technique coprologique nouvelle essentiellement destinée a la concentration des trophozoites d'amibes. *Bull. Soc. Pathol. exot.*, 65:390-8, 1972.
5. RAILLIET, A. & HENRY, A.C.L. apud AMATO NETO, V. & CORRÊA, L.L. — *Exame parasitológico das fezes*. 4a ed. São Paulo, Sarvier, 1980. p. 95.
6. RITCHIE, L.S. — An ether sedimentation technique for routine stool examinations. *Bull. U.S. Army med. Dep.*, 8:326, 1948.
7. SAPERO, J.J. & LAWLESS, D.K. — The "MIF" stain-preservation technique for the identification of protozoa. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 2:613-9, 1953.
8. SCHAUDINN, F. apud CRAIG, C.F. 1, p. 46.
9. WALTER-HALBERSTADT, P. — Wissenschaftlicher Teil. Steril-Catgut. *Apothekerzeitung*, Berlin, 47:1449-50, 1932.

Recebido para publicação em 27 de fevereiro de 1981.

ISOLAMENTO DE TRÊS NOVOS SOROTIPOS DE *SALMONELLA*: *S. COTIA*,
S. GUARAPIRANGA E *S. ARIZONAE* 65:l,v:z₃₅ DE ÁGUAS DE SUPERFÍCIE,
EM SÃO PAULO, BRASIL *

Kinue IRINO **
Gil Vital Alvares PESSÔA **
Chifumi Takeuchi CALZADA **
Maria Terezinha MARTINS ***
Petra Sanchez SANCHEZ ***

RIALA6/523

IRINO, K.; PESSÔA, G.V.A.; CALZADA, C.T.; MARTINS, M.T. & SANCHEZ, P.S. — Isolamento de três novos sorotipos de *Salmonella*: *S. cotia*, *S. guarapiranga* e *S. arizonae* 65:l,v:z₃₅ de águas de superfície, em São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):53-55, 1981.

RESUMO: É relatado o isolamento de três novos sorotipos de *Salmonella*: *S. cotia* e *S. guarapiranga*, pertencentes ao subgênero I, e *S. arizonae* 65:l,v:z₃₅, pertencente ao subgênero III.

DESCRITORES: *Salmonella*; *Salmonella* sp., sorotipos.

Três novos sorotipos de *Salmonella* sp. foram isolados de águas de superfície, utilizadas como manancial de abastecimento para a Grande São Paulo. O comportamento bioquímico apresentado pelas novas cepas isoladas encontra-se na tabela da página seguinte. A análise do perfil bioquímico mostra que os sorotipos *S. cotia* e *S. guarapiranga* apresentam comportamento atípico dentro do subgênero I. Assim, *S. cotia* não fermenta o dulcitol e cresce em meio com KCN. *S. guarapiranga* dá reação positiva para o teste de ONPG, não fermenta o mucato de sódio e não utiliza o citrato de Simmons como única fonte de carbono.

No subgênero III, *S. arizonae* 65:l,v:z₃₅ não fermenta ramnose.

A *Salmonella cotia* pertence ao grupo K do esquema de Kauffmann-White¹ e tem a seguinte constituição antigênica: 18:-:1,6; excepcionalmente não possui a primeira fase flagelar, e os antígenos da segunda fase apresentam a fórmula 1,6.

A *Salmonella guarapiranga* pertence ao grupo N e apresenta a constituição antigênica 30:a:e,n,x.

A *Salmonella arizonae* apresenta a constituição antigênica 65:l,v:z₃₅.

Estes três sorotipos de *Salmonella* foram confirmados pelo Prof. L. Le Minor, do Instituto Pasteur de Paris, e incluídos no Suplemento n.º XXII (1978) do esquema de Kauffmann-White¹.

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Da Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental, São Paulo, SP.

IRINO, K.; PESSÓA, G.V.A.; CALZADA, C.T.; MARTINS, M.T. & SANCHEZ, P.S. — Isolamento de três novos sorotipos de *Salmonella*, *S. cotia*, *S. guarapiranga* e *S. arizonae* 65:l,v:z₃₅, de águas de superfície, em São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):53-55, 1981.

TABELA

Perfil bioquímico dos três novos sorotipos de Salmonella isolados de água

Testes ou Substratos	<i>S. cotia</i> 18:—:1,6	<i>S. guarapiranga</i> 30:a:e,n,x	<i>S. arizonae</i> 65:l,v:z ₃₅
Adonitol	—	—	—
Dulcitol	—	+	—
Sorbitol	+	+	+
Arabinose	+	+	+
Xilose	+	+	+
Ramnose	+	+	—
Maltose	+	+	+
Salicina	—	—	—
Inositol	+	—	—
Lactose	—	—	—
Sacarose	—	—	—
Manitol	+	+	+
Glicose/gás	+ / +	+ / +	+ / +
Trealose	+	+	+
Rafinose	—	—	—
Sorbose	—	—	—
Celobiose	—	+	—
Glicerol	+	+	+
Melibiose	—	+	—
H ₂ S	+	+	+
Gelatinase	—	—	+
Nitrato redutase	+	+	+
TTR	+	+	+
Citrato Simmons	+	—	+
Malonato	—	—	+
Mucato	+	—	—
d-Tartarato	+	+	—
l-Tartarato	+	+	—
i-Tartarato	—	—	—
Citrato de Sódio	+	+	+
KCN	+	—	—
VM	+	+	+
VP	—	—	—
Mot. 37°C	+	+	+
LDC	+	+	+
ODC	+	+	+
ADH	—	—	—
Indol	—	—	—
ONPG	—	+	+
Urease	—	—	—

IRINO, K.; PESSÓA, G.V.A.; CALZADA, C.T.; MARTINS, M.T. & SANCHEZ, P.S. — Isolamento de três novos sorotipos de *Salmonella*, *S. cotia*, *S. guarapiranga* e *S. arizonae* 65:l,v:z₃₅, de águas de superfície, em São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):53-55, 1981.

RIALA6/523

IRINO, K.; PESSÓA, G.V.A.; CALZADA, C.T.; MARTINS, M.T. & SANCHEZ, P.S. — Isolation of three new *Salmonella* serotypes: *S. cotia*, *S. guarapiranga* and *S. arizonae* 65:l,v:z₃₅ from water reservoirs around São Paulo City, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):53-55, 1981.

ABSTRACT: Three new *Salmonella* serotypes were isolated from water samples collected in water reservoirs located around São Paulo City, state of São Paulo, Brazil. The serotypes were *S. cotia* and *S. guarapiranga* belonging to subgenus I, and *S. arizonae* 65:l,v:z₃₅ belonging to subgenus III.

DESCRIPTORS: *Salmonella*; *Salmonella* sp., serotypes.

Agradecimentos

Nossos agradecimentos ao Professor L. Le Minor, do Instituto Pasteur de Paris, pela confirmação bioquímica e sorológica destes novos sorotipos de *Salmonella*.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1. LE MINOR, L.; BOCKEMÜHL, J. & ROWE, B. — Supplément n.º XXII (1978) au schème de Kauffmann-White. *Ann. Microbiol.*, Paris, 130 B: 191-5, 1979.

Recebido para publicação em 4 de março de 1981.

INOVAÇÃO NA TELA METÁLICA UTILIZADA NO PREPARO DE MATERIAL PARA EXAME PARASITOLÓGICO DE FEZES ATRAVÉS DO MÉTODO DE SEDIMENTAÇÃO EM COPO *

Maria Ivani P. Gonçalves da SILVA **
Rita Maria da SILVA **
Maria Terumi YAMANAKA **
Lúcia de Lacerda CORRÊA **

RIALA6/524

SILVA, M.I.P.G.; SILVA, R.M.; YAMANAKA, M.T. & CORRÊA, L.L. — Inovação na tela metálica utilizada no preparo de material para exame parasitológico de fezes através do método de sedimentação em copo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1): 57-61, 1981

RESUMO: Em face do crescente custo da gaze em rolo, tipo queijo, usada na tamisação da emulsão de fezes no método de sedimentação em copo, procurou-se uma alternativa que redundou numa volta ao passado — o uso de tela metálica em vez de gaze, tal como assinalou Adolfo Lutz, em 1919. Após uma série de experimentos com telas dotadas de diferentes números de malhas por polegada linear, selecionou-se a tela ideal que, retendo os detritos, permite a passagem de ovos e larvas de helmintos e cistos de protozoários. Essa tela possui 200 malhas por polegada linear e está adaptada a um aro de peneira, mediante técnica adequada; sendo de aço inoxidável e alumínio, é de duração prolongada, e de limpeza e manuseio fáceis. Foi efetuado estudo comparativo de 300 materiais fecais examinados após o método de sedimentação em copo, utilizando gaze e a peneira metálica acima relatada. Os dados obtidos patentearam a superioridade da tela metálica, traduzida por maior número de exames parasitológicos de fezes positivos, quer para ovos ou larvas de helmintos, quer para cistos de protozoários.

DESCRIPTORIOS: fezes, exame parasitológico; fezes, sedimentação em copo, inovação na tela metálica.

INTRODUÇÃO

FERREIRA, em 1966, refere que "... Embora o método de sedimentação em água seja frequentemente denominado entre nós, de método de Hoffman, Pons e Janer (1934), a técnica nos seus fundamentos básicos já fora usada anteriormente. Assim, em 1919, num trabalho de Lutz encontramos textualmente: '(O exame torna-se mais fácil pela lavagem repetida das fezes, seguida de sedimentação simples ou centrifugação. Com estas, combina-se o uso de tecido de arame e o de gaze de moleiro, para reter todos os corpos mais grossos. Assim, obtem-se um sedimento que

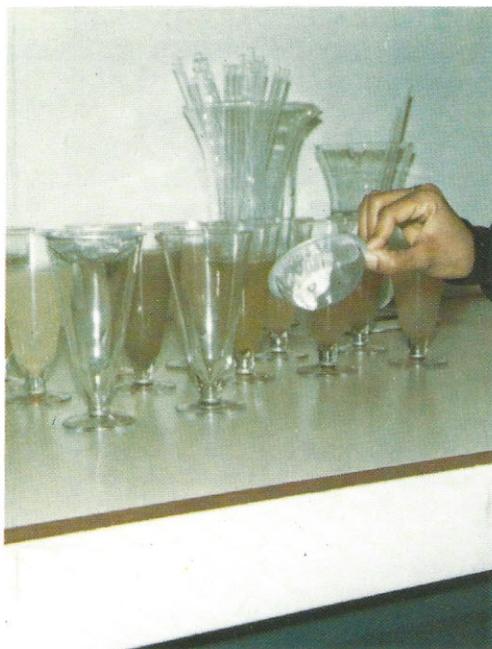
contém quase exclusivamente corpúsculos amiláceos e ovos de parasitos, sendo fácil de examinar)' ... Parece-nos evidente que se ao nome de algum autor deva estar ligada a técnica de sedimentação espontânea é ao de Lutz."

Revido os originais da publicação de LUTZ³, cujo trecho é acima citado por FERREIRA¹, não encontramos especificação de qualquer natureza quanto ao tipo de malha metálica utilizada por aquele autor.

HOFFMAN, PONS & JANER², ao publicarem a técnica de sedimentação em copo, referem

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.



1



2



3

FIGURAS 1 e 2 — Tela metálica fotografada em diferentes ângulos.

FIGURA 3 — Maneira de se utilizar a tela.

o uso de tela metálica de 80 - 100 malhas, sem dar maiores especificações.

Motivados pela alta constante do custo da gaze, e tendo que executar em nossa rotina um número elevado de exames parasitológicos de fezes, propusemo-nos a experimentar a tela metálica, como tinha sido anteriormente proposto pelos precursores da técnica de sedimentação.

MATERIAL E MÉTODOS

Desde as tentativas iniciais, eliminamos a tela de malha 105, que é usada no método de Kato-Katz, por permitir a passagem de grande quantidade de detritos. Em provas preliminares, experimentamos sucessivamente as telas de malha 150, 180, 200 e 250 na sedimentação em copo, e comparamos os resultados assim obtidos com os resultados dos mesmos materiais examinados após sedimentação em copo utilizando gaze como filtro.

Concluimos que as malhas 150 e 180 permitiam a passagem de abundantes resíduos, a malha 250 retinha partículas e ovos, ao passo que a malha 200 se constituía na malha de abertura ideal (o número de malhas de uma tela é a quantidade de aberturas dentro de uma polegada linear inglesa, igual a 25,4 mm).

Restava ainda o problema da adaptação da tela à boca do copo de sedimentação para o manejo rotineiro. Dentre as várias fábricas de telas consultadas, apenas uma conseguiu atender exatamente ao que desejávamos, pois a maior dificuldade era franzir a tela, que é muito fina, sem deixar escapar o fio. Obtivemos, então, um tipo de peneira côncava de malha 200, de aço inoxidável, semelhante a um coador de chá, e com borda de alumínio, bem ajustável ao copo de sedimentação de 125 ml, de fácil manuseio e fácil de limpar, conforme comprovaram inúmeros exames de telas após a lavagem, que atestaram a ausência de ovos, larvas ou cistos de parasitas, porventura retidos.

Passamos a avaliar o desempenho da tela 200 em 300 materiais já examinados pelo método de sedimentação com gaze, e pelo método de Kato-Katz, pesquisando todos os protozoários, ovos de helmintos e larvas. Procedemos à preparação dos materiais fecais, seguindo a mesma metodologia da sedimentação com gaze. Dois detalhes, no entanto, foram rigorosamente observados: a) as telas antes de serem usadas eram previamente umedecidas em água; b) colocada a emulsão na peneirinha, permitia-se o seu escoamento normal, sem o uso do palito de madeira. É evidente que certos materiais escoam mais lentamente, tanto na gaze como na tela, mas não utilizamos o palito para emulsioná-los, bastando para tanto agitar ligeiramente a peneira.

RESULTADOS E CONCLUSÕES

A tabela 1 exhibe o estudo comparativo entre os resultados dos exames parasitológicos de fezes efetuados através de método de sedimentação em copo, utilizando a gaze e a tela metálica, no que diz respeito aos números globais de resultados positivos ou negativos.

Fica evidente que a utilização da tela metálica proporcionou maior número de exames positivos, 200 ao todo, do que a utilização de gaze que revelou apenas 191 exames positivos.

Quanto ao estudo comparativo entre os exames de fezes positivados pelos dois diferentes processos, a discriminação por espécie de helmintos e protozoários é configurada na tabela 2, cuja análise demonstra a superioridade dos exames parasitológicos de fezes feitos através do método da sedimentação em copo, utilizando a tela metálica como elemento filtrante.

Estes resultados, acrescidos pelas vantagens já assinaladas de economia de material, manuseio e limpeza fáceis, permitem-nos recomendar a utilização da tela metálica por nós descrita como elemento filtrante no método de sedimentação em copo para exame parasitológico de fezes.

TABELA 1

Comparação dos resultados do método de sedimentação em copo, utilizando a gaze e a tela

Material usado	Exames positivos	Exames negativos	Exames negativos na tela e na gaze	Exames realizados Total
Gaze	191	22	87	300
Tela	203	10	87	300

SILVA, M.I.P.G.; SILVA, R.M.; YAMANAKA, M.T. & CORRÊA, L.L. — Inovação na tela metálica utilizada no preparo de material para exame parasitológico de fezes através do método de sedimentação em copo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):57-61, 1981.

TABELA 2

Comparação dos resultados do método de sedimentação em copo, utilizando a gaze e a tela: discriminação dos parasitas

Helmintos	Exames positivos	
	Gaze	Tela
<i>Ascaris lumbricoides</i>	66	68
<i>Trichocephalus trichiurus</i>	48	54
<i>Ancylostomidae</i>	50	55
<i>Hymenolepis nana</i>	4	7
<i>Enterobius vermicularis</i>	1	1
<i>Schistosoma mansoni</i>	37	40
<i>Strongyloides stercoralis</i>	13	21
Protozoários	Gaze	Tela
<i>Entamoeba histolytica</i>	7	8
<i>Entamoeba coli</i>	53	57
<i>Giardia lamblia</i>	29	33
<i>Endolimax nana</i>	22	31
<i>Chilomastix mesnili</i>	2	2
<i>Iodamoeba butschlii</i>	6	6

RIALA6/524

SILVA, M.I.P.G.; SILVA, R.M.; YAMANAKA, M.T. & CORRÊA, L.L. — Improved sieving of feces for cup sedimentation through use of a metallic sieve. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):57-61, 1981.

ABSTRACT: A 200-mesh per inch, stainless steel-aluminum grate adequately held by a metallic frame was found to be a good substitute for the usual discardable cotton gauze employed for sieving feces and similar material for parasitological examination. Besides being long lasting, its cleaning, disinfection and handling is easier. After testing different numbers of meshes per unit area, the 200-mesh per inch was compared with the standard surgical gauze in over 300 fecal specimens examined through cup sedimentation after sieving. More positive findings of eggs, helminth larvae and protozoan cysts were obtained with the metallic grate.

DESCRIPTORS: feces, parasitological examination; cup sedimentation of feces, improved sieving.

SILVA, M.I.P.G.; SILVA, R.M.; YAMANAKA, M.T. & CORRÊA, L.L. — Inovação na tela metálica utilizada no preparo de material para exame parasitológico de fezes através do método de sedimentação em copo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):57-61, 1981.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FERREIRA, L.F. — O exame parasitológico das fezes — Estudo comparativo das principais técnicas. *Hospital*, Rio de J., 70:347-68, 1966.
2. HOFFMAN, W.A.; PONS, J.A. & JANER, J.L. — The sedimentation-concentration in schistosomiasis mansoni. *Puerto Rico J. publ. Hlth trop. Med.*, 9:281-98, 1934.
3. LUTZ, A. — O *Schistosomum mansoni* e a Schistosomatose segundo observações, feitas no Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 11:121-44, 1919.

Recebido para publicação em 8 de março de 1981.

ÓLEO DE OLIVA — AVALIAÇÃO DE SUA QUALIDADE *

Elza S. Gastaldo BADOLATO **
Franca DURANTE **
Maria Elisa W. de ALMEIDA **
Neusa V. V. SILVEIRA **

RIALA6/525

BADOLATO, E.S.G.; DURANTE, F.; ALMEIDA, M.E.W & SILVEIRA, N.V.V. — Óleo de oliva — avaliação de sua qualidade. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1): 63-70, 1981.

RESUMO: Existem algumas misturas de óleos que, pela composição de seus ácidos graxos, podem ser adicionadas a óleos de oliva, sem que essa fraude possa ser detectada pelos processos clássicos, pois os índices físico-químicos do produto final caem dentro do intervalo característico do óleo de oliva puro. A cromatografia em fase gasosa foi empregada para a obtenção do perfil cromatográfico dos ácidos graxos do óleo de oliva, do de soja e do de babaçu, bem como de misturas, preparadas no laboratório, de dois ou três dos referidos óleos. Foram também determinados os índices de iodo e de refração dos óleos puros e das misturas de óleos. Pela presença dos ácidos graxos caprílico, cáprico, láurico e mirístico, e pela composição relativa dos demais ácidos, foi possível detectar a presença de óleo de babaçu e de óleo de soja em óleos de oliva, mesmo quando os índices físico-químicos indicavam óleo de oliva puro. Durante o período de janeiro de 1979 a dezembro de 1980, foram analisadas 190 amostras de óleos de oliva, expostos ao consumo em São Paulo, provenientes do exterior, sendo que os óleos enlatados no país de origem eram puros, enquanto que 42% dos enlatados no Brasil estavam falsificados.

DESCRITORES: óleo de oliva, detecção de fraude; óleo de oliva, controle de qualidade por cromatografia em fase gasosa, índice de iodo e índice de refração.

INTRODUÇÃO

A identificação de óleos comestíveis, através da composição dos ácidos graxos, tem sido considerada como elemento importante pelo "Comitê do Codex Alimentarius" para óleos e gorduras, do Programa Conjunto FAO/OMS sobre padrões de alimentos.

Uma revisão sobre esse tipo de identificação por meio da cromatografia em fase gasosa foi feita por O'CONNOR & HERB (1970)⁵, que apresentam tabelas da composição de ácidos graxos de diferentes óleos comestíveis.

Pesquisadores interessados no problema da adulteração de óleo de oliva pela adição de outros óleos comestíveis tentaram utilizar outras técnicas (GALANOS et alii³), porém foi a

cromatografia em fase gasosa o processo que apresentou melhores resultados (IVERSON et alii⁴; VIDAL et alii⁶; SOARES & AMAYA⁷).

Os métodos clássicos para a identificação e verificação da pureza de óleos comestíveis baseiam-se em um conjunto de dados, tais como índice de iodo, índice de refração, densidade relativa e índice de saponificação. Entretanto, como esses índices não são números absolutos mas compreendem determinados intervalos de valores que, muitas vezes, são parcialmente comuns a mais de um óleo, torna-se difícil, em alguns casos, a verdadeira identificação do produto.

Analisando, por cromatografia em fase gasosa, amostras de óleos de oliva considerados

* Realizado na Diretoria de Serviços de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

puros pela determinação dos índices físico-químicos, verificamos estarem os mesmos adulterados.

Por este motivo, propusemo-nos a identificar, por cromatografia em fase gasosa, a natureza dos óleos adulterantes e a proporção em que os mesmos podem ser adicionados ao óleo de oliva, sem que esta fraude possa ser detectada pelos índices físico-químicos usuais.

Ao mesmo tempo, resolvemos realizar um levantamento da qualidade do óleo de oliva exposto ao comércio no Estado de São Paulo.

MATERIAL

Durante o período de janeiro de 1979 a dezembro de 1980, analisamos 190 amostras de óleo de oliva de 34 marcas diferentes, de procedência estrangeira, enlatados no país de origem ou no Brasil, e expostos ao comércio em São Paulo. Analisamos também 12 amostras de óleo de soja, 6 amostras de óleo de babaçu (*Orbignya speciosa* L.) e 26 misturas de óleos por nós preparadas no laboratório, como especificado abaixo:

Misturas preparadas

- óleo de oliva ao qual se adicionaram 5, 10, 20, 30 e 50 partes de óleo de babaçu;
- óleo de oliva ao qual se adicionaram 15, 20, 30, 40 e 50 partes de óleo de soja;
- óleo de oliva ao qual se adicionaram quantidades variáveis de óleo de soja e de óleo de babaçu, num total de 16 amostras.

MÉTODOS

A análise dos ácidos graxos foi efetuada por cromatografia em fase gasosa. O processo empregado para a metilação foi o de transesterificação, de acordo com BADOLATO & ALMEIDA¹. Foi usado um cromatógrafo a gás, com detector de ionização de chama*, acoplado a um integrador.

Os componentes foram separados em coluna de 6 pés de comprimento por 1/8 de polegada de diâmetro interno, tendo como fase estacionária DEGS (succinato de dietileno glicol) a 20%, em Chromosorb W.

Foram observadas as seguintes condições de operação:

Temperatura do injetor: 210°C

Temperatura do detector: 220°C

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

Gás de arraste: nitrogênio

Fluxo: 30 ml/min

Sensibilidade: 16×10^{-10} e 32×10^{-10}

Velocidade do papel: 0,2 cm/min

Em todas as amostras foram determinados os índices de iodo (método de Wijs) e de refração, a 40°C, segundo os processos indicados nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz⁶.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na composição dos ácidos graxos de óleo de oliva puro, identificamos os seguintes ácidos: palmítico, palmitoléico, esteárico, oléico, linoléico e linolênico e traços de araquídico (fig. 1); no óleo de soja encontramos os mesmos ácidos graxos, menos o palmitoléico (fig. 2), e traços de ácido mirístico, detectados quando trabalhamos com sensibilidade maior. Quanto ao óleo de babaçu, foram identificados os seguintes ácidos: caprílico, capríco, láurico, mirístico, palmítico, esteárico, oléico e linoléico (fig. 3).

Os resultados da análise da composição dos ácidos graxos encontrados nos óleos de oliva, soja e babaçu estão reunidos na tabela 1.

Na tabela 2 estão reunidos os intervalos dos índices de iodo e refração dos óleos de oliva, de soja e de babaçu, constantes da legislação brasileira².

Os índices de iodo e de refração das misturas por nós preparadas encontram-se reunidos na tabela 3.

Pelos resultados obtidos podemos verificar que, quando a falsificação do óleo de oliva é feita somente pela adição de óleo de soja, esta fraude pode ser facilmente detectada pela determinação dos índices de refração e de iodo, pois estes têm seus valores aumentados, caindo fora dos intervalos característicos para óleo de oliva puro. Esta mesma fraude, por meio da cromatografia em fase gasosa, é evidenciada pela variação na proporção relativa dos ácidos oléico, linoléico e linolênico (fi. 4).

A adição de pequenas quantidades de óleo de babaçu ao óleo de oliva dificilmente é detectada pelos índices clássicos; entretanto, através da cromatografia em fase gasosa, pudemos comprovar qualquer proporção de óleo de babaçu adicionado, devido à presença dos ácidos caprílico, capríco, láurico e mirístico, que não entram na composição dos ácidos graxos de óleo de oliva (fig. 5).

Geralmente, o óleo utilizado para a falsificação do óleo de oliva é o de soja, fraude esta facilmente detectada. A adição de óleo de babaçu, cujos índices de iodo e de refração são muito baixos, a misturas de óleo de oliva e de soja, tem a finalidade de fazer com que os índices da mistura final caiam dentro do intervalo característico de óleo de oliva puro. Somente a cromatografia em fase gasosa é capaz de detectar este tipo de fraude (fig. 6).

* Marca Varian, mod. 1440.

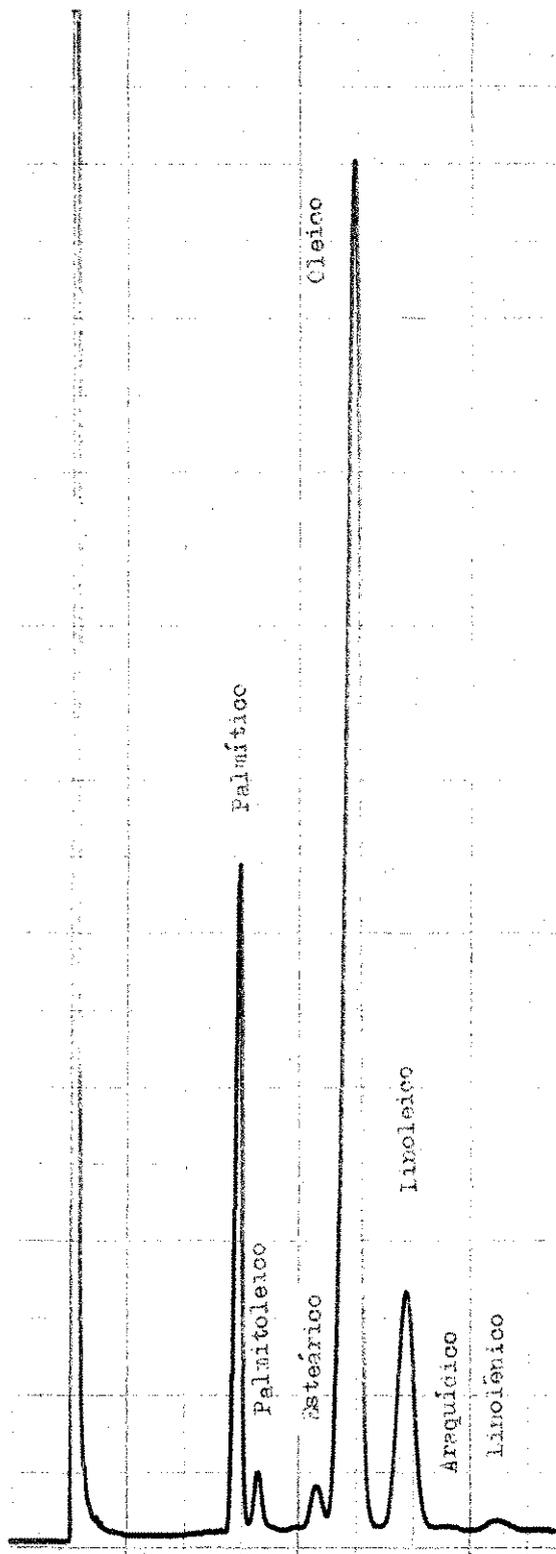


Fig. 1 — Cromatograma de ácidos graxos de óleo de oliva.

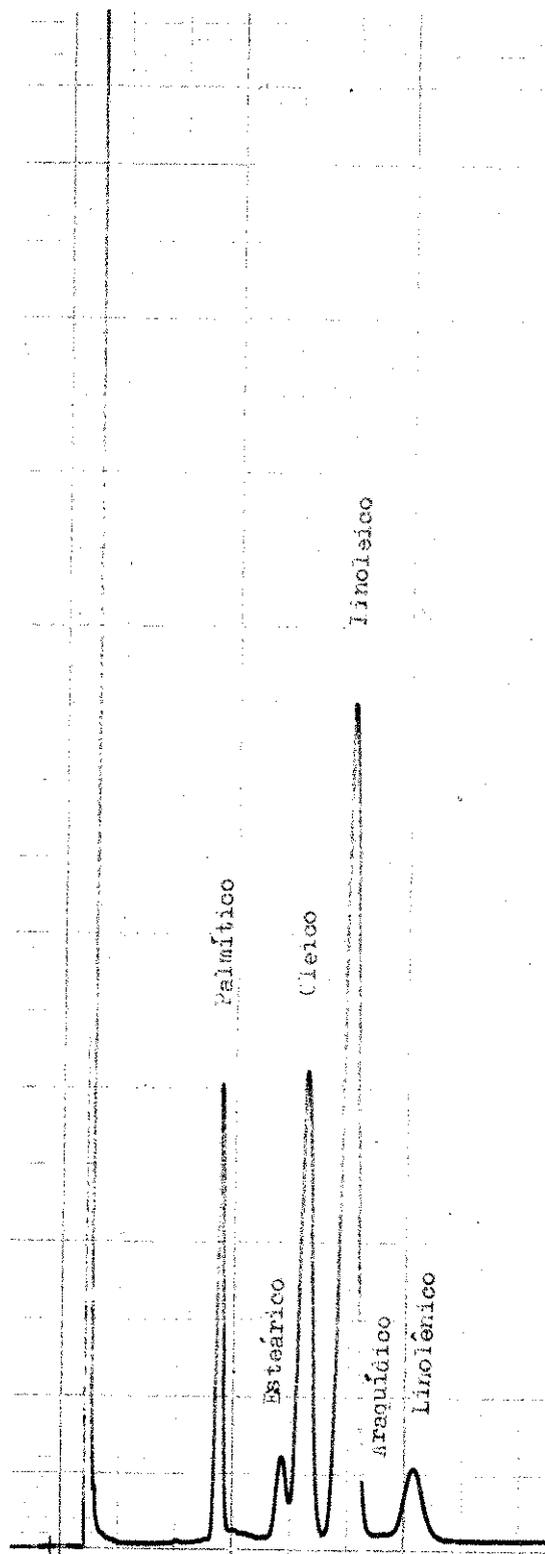


Fig. 2 — Cromatograma de ácidos graxos de óleo de soja.

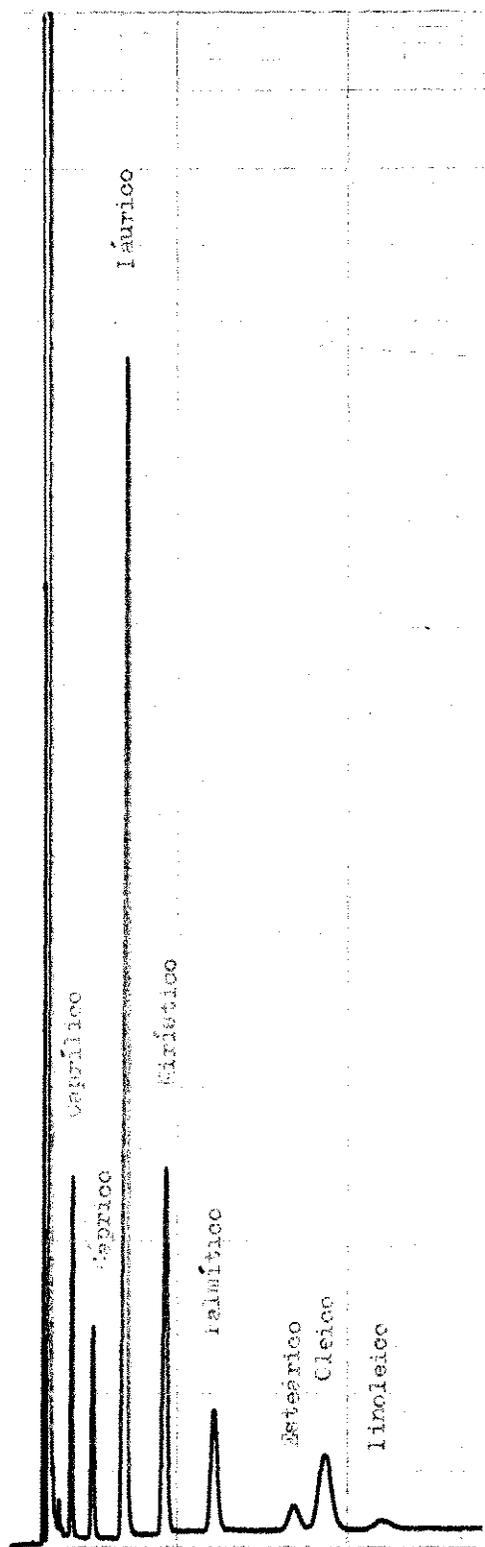


Fig. 3 — Cromatograma de ácidos graxos de óleo de babaçu (*Orbignya speciosa* L.).

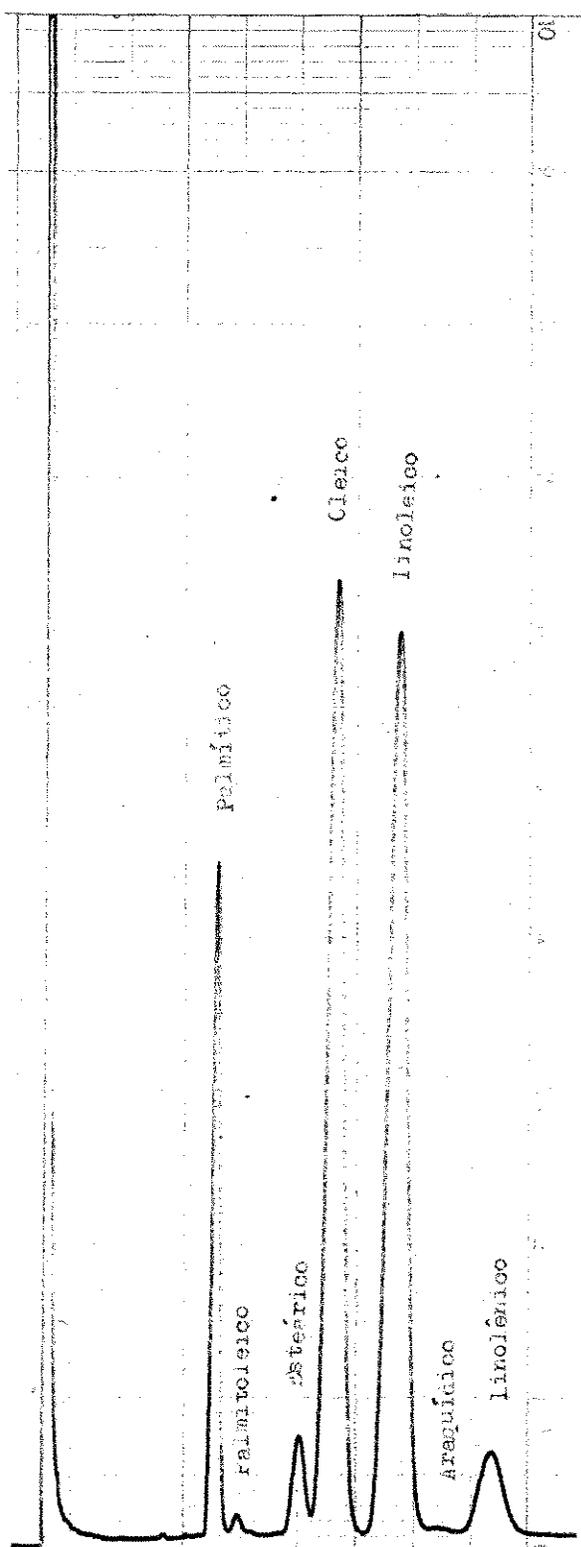


Fig. 4 — Cromatograma de ácidos graxos de óleo de oliva adulterado com óleo de soja (exposto ao comércio).

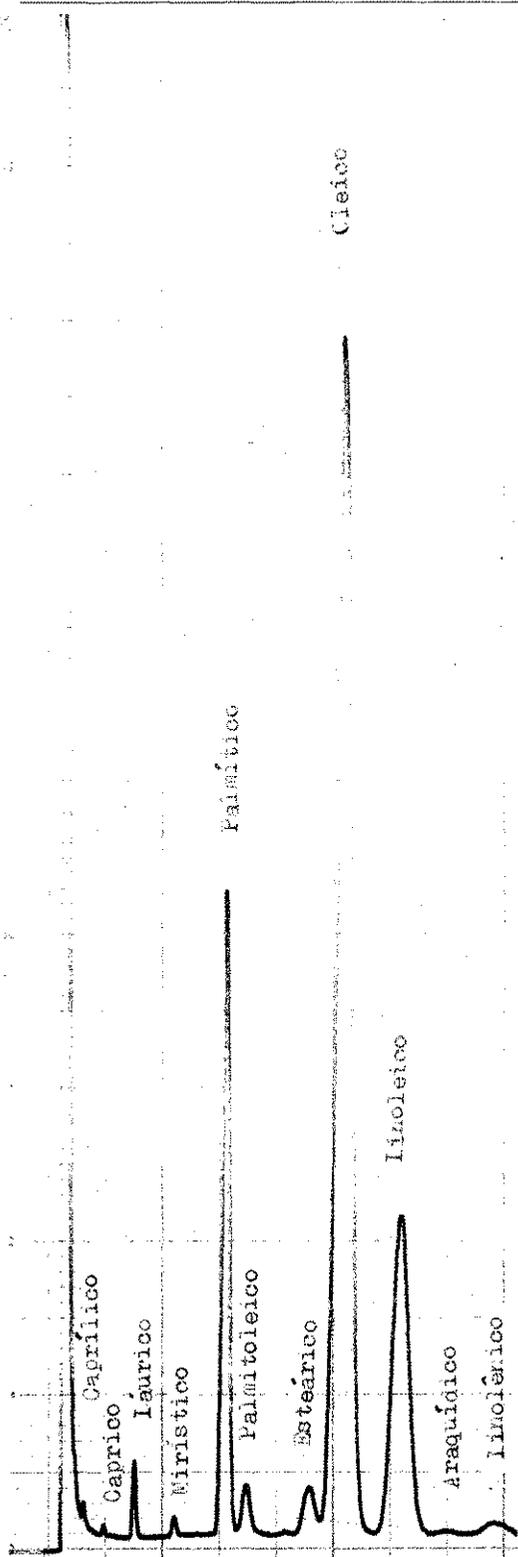


Fig. 5 — Cromatograma de ácidos graxos de óleo de oliva adulterado com óleo de babaçu (exposto ao comércio).

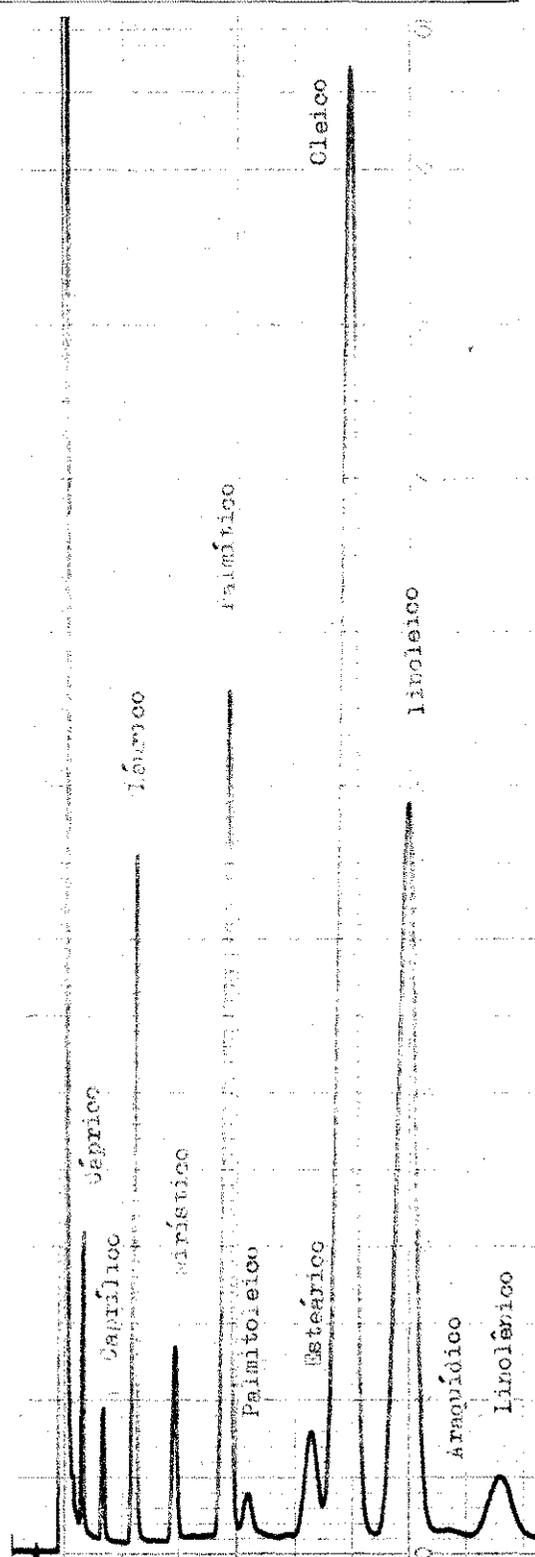


Fig. 6 — Cromatograma de ácidos graxos de óleo de oliva adulterado com óleo de soja e de babaçu (exposto ao comércio).

TABELA 1

Composição em ácidos graxos dos óleos de oliva, de soja e de babaçu

Ácidos graxos	Óleo de oliva		Óleo de soja		Óleo de babaçu	
	Porcentagem mínima	Porcentagem máxima	Porcentagem mínima	Porcentagem máxima	Porcentagem mínima	Porcentagem máxima
Caprílico	—	—	—	—	4,10	5,71
Cáprico	—	—	—	—	4,76	5,66
Láurico	—	—	—	—	41,73	44,71
Mirístico	—	—	traços		15,48	17,29
Palmítico	9,33	18,40	10,32	14,93	9,02	9,99
Palmitoléico	0,29	3,24	—	—	—	—
Esteárico	0,61	3,80	2,13	4,42	3,13	3,87
Oléico	59,65	78,90	18,51	23,74	11,69	15,72
Linoléico	4,31	18,71	54,62	58,30	2,12	2,72
Araquídico	traços		traços		—	—
Linoléico	0,33	1,20	4,91	9,53	—	—

TABELA 2

Constantes físico-químicas de óleos de oliva, de soja e de babaçu

Óleos	Índice de iodo (Wijs)		Índice de refração a 40°C	
	mínimo	máximo	mínimo	máximo
Óleo de oliva	75	90	1,4601	1,4629
Óleo de soja	120	143	1,4670	1,4690
Óleo de babaçu	12	18	1,4480	1,4560

TABELA 3

Constantes físico-químicas de misturas de óleo de oliva com óleo de babaçu e óleo de soja

Misturas de óleos (%)			Índice de iodo (Wijs)	Índice de refração a 40°C
oliva	soja	babaçu		
85	15	—	91,44	1,4625 *
80	20	—	93,73	1,4632
70	30	—	94,49	1,4634
60	40	—	101,85	1,4640
50	50	—	105,66	1,4647
95	—	5	81,28 *	1,4611 *
90	—	10	77,72 *	1,4606 *
80	—	20	71,12	1,4595
70	—	30	64,52	1,4582
50	—	50	50,80	1,4560
85	10	5	85,15 *	1,4620 *
75	20	5	89,15 *	1,4625 *
65	30	5	93,47	1,4630
55	40	5	98,04	1,4636
45	50	5	102,11	1,4641
80	10	10	81,28 *	1,4613 *
70	20	10	84,83 *	1,4618 *
60	30	10	89,90 *	1,4624 *
50	40	10	94,99	1,4631
40	50	10	99,06	1,4635
70	10	20	74,17	1,4605 *
60	20	20	77,98 *	1,4608 *
50	30	20	82,29 *	1,4614 *
40	40	20	86,61 *	1,4619 *
30	50	20	91,95	1,4591
60	10	30	67,06	1,4625 *

* Índices compreendidos dentro do intervalo característico de óleo de oliva puro.

CONCLUSÃO

A cromatografia em fase gasosa na análise de ácidos graxos de óleos comestíveis mostrou ser um processo eficiente para detectar a falsificação de óleo de oliva. Através deste processo, é possível comprovar a adição de óleos de soja e/ou óleo de babaçu ao óleo de oliva,

mesmo quando os índices clássicos se situam dentro dos intervalos que caracterizam este óleo.

De todos os óleos de oliva analisados, nesse período, os enlatados em seus países de origem eram puros, enquanto que 42% dos enlatados no Brasil eram falsificados.

RIALA6/525

BADOLATO, E.S.G.; DURANTE, F.; ALMEIDA, M.E.W. & SILVEIRA, N.V.V. — Quality evaluation of olive oil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):63-70, 1981.

ABSTRACT: There are some oil mixtures that, due to their fatty acid composition, can be added to olive oils. This addition cannot be detected through routine procedures because the chemical and physical values of the final product are within the characteristic pure olive oil ranges. Gas liquid chromatography was used to obtain the chromatographic features of fatty acids of olive, soybean and "babassu" (*Orbignya speciosa* L.) oils. Mixtures of two and/or three of these oils were prepared in the laboratory and were similarly assayed. The refractive index at 40°C and the iodine number were also determined. The presence of "babassu" and soybean oils was detected by the presence of caprylic, capric, lauric and myristic acids and the relative composition of other fatty acids. Such a fraud was verified even in olive oils considered pure by the iodine number and refractive index determination. From January 1979 to December 1980, 190 samples collected in the city of São Paulo were analysed; these analyses showed that the olive oils canned in the origin country were pure while 42% of the 155 samples locally canned were added of foreign oils.

DESCRIPTORS: olive-oil, fraud detection; olive oil, quality control by gas liquid chromatography, iodine number and refraction index.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BADOLATO, E.S.G. & ALMEIDA, M.E.W. — Pesquisa por cromatografia em fase gasosa da adulteração de chocolates. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 37:47-56, 1977.
2. BRASIL. Leis, decretos, etc. — Resolução N.º 22/77. *Diário Oficial*, Brasília, 6 set. 1977. Seção 1, pt. 1, p. 11807. Estabelece padrão de identidade e qualidade para os óleos e gorduras comestíveis, destinados à alimentação humana.
3. GALANOS, D.S.; KAPOULAS, V.M. & VOUDOURIS, E.C. — Detection of adulteration of olive oil by argentation thin layer chromatography. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 45:825-9, 1968.
4. IVERSON, J.L.; EISNER, J. & FIRESTONE, D. — Fatty acid composition of olive oil by urea fractionation and gas-liquid chromatography. *J. Ass. off. agric. Chem.*, 48:1191-1202, 1965.
5. O'CONNOR, R.T. & HERB, S.F. — Specifications of fatty acid composition for identification of fats and oils by gas liquid chromatography. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 47:186A, 195A, 197A, 1970.
6. 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, Melhoramentos, 1976. p. 189-92.
7. SOARES, L.V. & AMAYA, D.R. — Adulteração de óleo de oliva no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 4.º, Rio de Janeiro, 1980. [Rio de Janeiro, Imprensa Universitária, 1980] p. 162. [Resumos de trabalhos]
8. VIDAL, P.A.; RICCIARDI, A.J. & FERREIRA, J.F. — Determinação da adição de óleo de soja a outros óleos vegetais comestíveis por cromatografia em fase gasosa. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1): 67-77, 1979.

Recebido para publicação em 11 de março de 1981.

ENTEROPATÓGENOS EM SANTOS: INQUÉRITO BACTERIOLÓGICO NA POPULAÇÃO DIARRÉICA COM MAIS DE CINCO ANOS DE IDADE *

Gil Vital Álvares PESSÓA **
Kinue IRINO **
Elena KANO **
Vera SIMONSEN **
Suzel NOGUEIRA **

RIALA6/526

PESSÓA, G.V.A.; IRINO, K.; KANO, E.; SIMONSEN, V. & NOGUEIRA, S. —
Enteropatógenos em Santos: inquérito bacteriológico na população diarréica
com mais de cinco anos de idade. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1)71-74, 1981.

RESUMO: É relatado o isolamento de enteropatógenos durante o inquérito bacteriológico em Santos, SP. Em 242 coproculturas de pacientes com diarréia aquosa, 42 resultaram positivas. Foram isolados 62,7% de *Shigella* sp., 27,9% de *Salmonella* sp. e 9,4% de *Escherichia coli* LT+. Este inquérito teve duração de duas semanas e foi realizado em virtude do isolamento de 2 cepas de *Vibrio cholerae* em água de esgoto.

DESCRIPTORIOS: enterobactérias patogênicas; *Shigella*; *Salmonella*; *Escherichia*.

INTRODUÇÃO

Em conseqüência de isolamento de duas cepas de *Vibrio cholerae*, biotipo Eltor, sorotipo Ogawa, em amostras de água de esgoto da cidade de Santos, em maio de 1978, procedeu-se a um inquérito epidemiológico que foi realizado pela Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo e, entre outras medidas planejadas, constava a realização de coproculturas de todos os moradores da Ilha de São Vicente, com mais de cinco anos de idade, que fossem portadores de quadro diarréico agudo. Este inquérito bacteriológico teve a duração de duas semanas e foi interrompido ao ser constatado que as estirpes de *V. cholerae* não eram toxigênicas.

MATERIAL E MÉTODOS

De 6 a 20 de maio de 1978 foram coletadas 242 amostras de fezes de moradores da Ilha de São Vicente, com diarréia aquosa.

As fezes foram coletadas em meio de transporte de Cary-Blair e semeadas de acordo

com o indicado em "Normas, métodos e técnicas para isolamento e diagnóstico das enterobactérias, em especial dos vibriões coléricos", de Costa *et alii*¹.

A pesquisa de enterobactérias foi realizada de acordo com a metodologia utilizada na rotina do Setor de Enterobactérias da Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz².

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De 242 coproculturas realizadas, 42 foram positivas compreendendo 17,3% do total de amostras examinadas (tabela 1).

Pela análise da tabela 1, observa-se que dos enteropatógenos os mais freqüentemente isolados foram a *Shigella* sp., isto é, em 62,4% das oportunidades, enquanto que a *Salmonella* sp. o foi em 27,9%, e *E. coli* enterotoxigênica em 9,4% das ocasiões. Estes resultados obtidos diferem dos encontrados em São Paulo, por TAUNAY *et alii*³, pois o isolamento de *Shigella* sp. decresceu de 1963 a 1969 de 5,0% a 3,7%. Esta tendência manteve-se na década

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

de 1970, pois o isolamento desta bactéria nos anos de 1970 a 1976 variou de 2,86% a 1,85% com média de isolamentos, neste septênio, de 2,46%³.

A análise da distribuição dos enteropatógenos isolados, segundo os grupos etários (tabela 2), revela que 74% dos casos positivos encontra-se na faixa que vai de 15 aos 40 anos de idade, achado que está em desacordo com o relatado por PESSÔA *et alii*³, em relação ao isolamento de *Shigella* sp., em São Paulo, que assevera que 54,3% dos isolamentos desta bactéria se encontra na faixa de 0 a 5 anos.

O encontro de *Shigella* sp. em 11,2% do total de coproculturas realizadas é um dado significativo pois, no momento do inquérito, não ocorria surto epidêmico e o objetivo era o encontro do vibrião colérico no grupo etário mais susceptível a esta bactéria, na população com diarreia.

Cotejando os dados obtidos em nosso meio com os obtidos nas duas semanas de rastreamento epidemiológico efetuado em Santos, podemos inferir que na realidade não houve diminuição de incidência das shigeloses. O que provavelmente ocorre é que, neste grupo etário, o diagnóstico laboratorial não é frequentemente efetuado, seja decorrente da não solicitação do exame, ou por deficiência no em-

prego de técnicas bacteriológicas na grande maioria dos laboratórios existentes.

Neste estudo a *S. typhimurium* foi o agente causal de diarreia mais encontrado entre as salmonelas, em 67% dos casos. Entretanto, o achado difere do relatado por PESSÔA *et alii*^{4,5} em relação à constituição do seu perfil antigênico somático pois 99,67% de *S. typhimurium* isolada de coprocultura em São Paulo pertence à variedade *Copenhagen*, isto é, O5 negativa. Também é interessante notar que das oito cepas de *S. typhimurium* isoladas, sete apresentaram sensibilidade a todos os agentes antimicrobianos testados e uma era resistente a apenas três.

Este comportamento é totalmente diferente do observado na grande maioria das cepas O5 negativas isoladas de coproculturas em São Paulo, comportando-se as isoladas do material de Santos como cepas "selvagens" em oposição a cepas "hospitales" isoladas em São Paulo².

Foram isoladas em 4 oportunidades cepas enterotoxigênicas de *E. coli*.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos epidemiologistas da DRS-2 da Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo pela colaboração efetiva.

TABELA 1
Cepas enteropatógenicas isoladas

Enteropatógenos	Total
<i>Escherichia coli</i> enterotoxigênica (LT +)	4
<i>Shigella dysenteriae</i> 2	2
<i>Shigella flexneri</i> 1	2
<i>Shigella flexneri</i> 2	14
<i>Shigella flexneri</i> 3	2
<i>Shigella flexneri</i> 6	2
<i>Shigella sonnei</i> e <i>Shigella flexneri</i> 2	3
<i>Salmonella typhimurium</i> O5 +	8
<i>Salmonella infantis</i>	2
<i>Salmonella panama</i>	1
<i>Salmonella anatum</i>	1
Total	42

PESSÔA, G.V.A.; IRINO, K.; KANO, E.; SIMONSEN, V. & NOGUEIRA, S. — Enteropatógenos em Santos: inquérito bacteriológico na população diarréica com mais de cinco anos de idade. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):71-74, 1981.

TABELA 2
Distribuição, por grupos etários, dos enteropatógenos isolados

Grupo etário (anos)	Enteropatógenos							
	5 — 10	11 — 14	15 — 19	20 — 29	30 — 39	40 — 49	50 — 59	> 60
<i>E. coli</i> LT+	0	2	0	1	1	0	0	0
<i>Shigella dysenteriae</i> 2	0	0	1	1	0	0	0	0
<i>Shigella flexneri</i> 1	0	0	0	0	1	1	0	0
<i>Shigella flexneri</i> 2	1	1	3	3	1	2	1	2
<i>Shigella flexneri</i> 3	0	0	0	1	1	0	0	0
<i>Shigella flexneri</i> 6	0	0	0	0	1	1	0	0
<i>Shigella sonnei</i>	0	0	1	1	0	0	0	1
<i>Shigella sonnei</i> e <i>Shigella flexneri</i> 2	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. typhimurium</i> 05+	0	0	1	1	2	4	0	0
<i>Salmonella infantis</i>	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Salmonella panama</i>	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Salmonella anatum</i>	0	0	0	0	0	0	0	1
Total	2	3	6	9	8	8	1	5

RIALA6/526

PESSÔA, G.V.A.; IRINO, K.; KANO, E.; SIMONSEN, V. & NOGUEIRA, S. — Enteropathogenic bacteria in Santos: a survey in individuals over five-year old with diarrhea. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):71-74, 1981.

ABSTRACT: As a consequence of the isolation of two strains of *Vibrio cholerae*, a bacteriological survey was conducted in the area of Santos, a port in the state of São Paulo, Brazil. During a two-week period, 242 stool specimens were collected from patients with watery diarrhea. Of those specimens, 42 were positive: 62.7% for *Shigella* sp., 27.9% for *Salmonella* sp. and 9.4% for *Escherichia coli* LT+.

DESCRIPTORS: *Enterobacteriaceae*, pathogenic enterobacteria; *Shigella*; *Salmonella*; *Escherichia*.

PESSÓA, G.V.A.; IRINO, K.; KANO, E.; SIMONSEN, V. & NOGUEIRA, S. — Enteropatógenos em Santos: inquérito bacteriológico na população diarreica com mais de cinco anos de idade. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):71-74, 1981.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL Comissão Nacional de Prevenção à Cólera. Secretaria Nacional de Saúde. *Normas, métodos e técnicas para isolamento e diagnóstico das enterobactérias, em especial dos vibriões coléricos*. [s.1] 1975. 36 p.
2. PESSÓA, G.V.A. — Contaminação por enterobactérias em berçários no município de São Paulo. São Paulo, 1978. [Tese livre doc. — Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo]
3. 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 1970-1976. III — Sorotipos de *Shigella* e de *Escherichia coli* da gastroenterite infantil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38:129-39, 1978.
4. 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.
5. 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.
6. 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.

Recebido para publicação em 11 de março de 1981.