

RIAL - A VOLUME 35/36 NÚMERO ÚNICO 1975/76

REVISTA
do
INSTITUTO
ADOLFO LUTZ

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DOS SERVIÇOS TÉCNICOS ESPECIALIZADOS
INSTITUTO ADOLFO LUTZ
S. PAULO - BRASIL

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

Rev. Inst. Adolfo Lutz, São Paulo, 35/36, 1975/76

CONTEÚDO / CONTENTS

- 409 Professor Samuel Barnsley Pessoa. Necrológio
Professor Samuel Barnsley Pessoa. Necrology 1-4
- 410 Incidência dos helmintos causadores da ancilostomíase humana em Santa
Maria, Rio Grande do Sul, Brasil
*Incidence of helminths causing human ancylostomiasis in Santa Maria,
Rio Grande do Sul, Brazil*
Astrogildo AZEVEDO; Léo SILVEIRA & Sérgio WEINMANN 5-7
- 411 Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* em ostras e outros produtos mari-
nhos no litoral de São Paulo, Brasil. Revisão e considerações sobre
o risco potencial para a saúde pública
*Occurrence of Vibrio parahaemolyticus in oysters and other sea products
from the São Paulo littoral in Brazil. Review and coments on the
potential public health problems*
Dilma Scala GELLI; Takako TACHIBANA & Theodosio M. P. SILVA .. 9-16
- 412 Teores de cobre em café torrado e moído e em café bebida
Copper contents in roasted and ground coffee and in coffee drink
Walkyria H. LARA; Myrian de TOLEDO & Mickiko TAKAHASHI 17-22
- 413 Contribuição ao estudo polarográfico de naftilazoderivados
Polarographic analysis of naphthylazoderivates
Celso F. BITTENCOURT & Celia Wisniewski KAMINSKI 23-29

414	<p>Teste para substâncias depressoras em antibióticos de uso humano e veterinário</p> <p><i>Test for depressing substances in antibiotics of human and veterinarian use</i></p> <p>Serjio L. DALMORA & Celso F. BITTENCOURT</p>	31-34
415	<p>Doença de Fox-Fordyce (miliaria apocrina) das regiões axilares: diagnóstico histopatológico e histoquímica</p> <p><i>Fox-Fordyce disease (miliaria apocrina) in the axillae: histopathologic diagnosis and histochemistry</i></p> <p>Evandro Pimenta de CAMPOS; Adriana Manginelli MASSIGNANI & Flávio Rosa SILVA</p>	35-39
416	<p>Cromoblastomicose em pacientes com Hanseníase</p> <p><i>Chromoblastomycosis in patient recovered from leprosy</i></p> <p>Evandro Pimenta de CAMPOS; José Marcelo da Motta GUERRA; Miécio Martiniano de AZEVEDO; Hassib ASHCAR; Adriana Manginelli MASSIGNANI & Januario DELLE CAVE</p>	41-46
417	<p>Traços de metais em cabelos humanos</p> <p><i>Metal traces in human hair</i></p> <p>Myrian de TOLEDO & Germínio NAZÁRIO</p>	47-53
418	<p>Determinação do teor de fósforo em produtos cárneos. I. Método para dosagem do fósforo</p> <p><i>Determination of phosphorus in meat products. I. A method for phosphorus dosage</i></p> <p>Celso Augusto Fessel GRANER; Dirceu Rodrigues MEIRA & Pasqual MUCCILO</p>	55-62
419	<p>Níveis de imunoglobulinas humanas G, A e M em soros de recém-nascidos, crianças e adultos</p> <p><i>G, A and M human immunoglobulin levels in sera from new-born, children and adults</i></p> <p>Josué M. OTSUKA; Clara F. TACHIBANA; Maricy Alves RIBEIRO; Nair K. KAMEI & Augusta K. TAKEDA</p>	63-66
420	<p>Displasia do colo uterino e carcinoma <i>in situ</i></p> <p><i>Cervix uteri dysplasia and carcinoma in situ</i></p> <p>Evandro Pimenta de CAMPOS</p>	67-76
421	<p>Modificação do método tricrômico de Masson para coloração de tecidos</p> <p><i>Modification to the trichromic method of Masson for tissue staining</i></p> <p>Evandro Pimenta de CAMPOS; Antonio James BRANDI; Adriana Manginelli MASSIGNANI; Nilza BAPTISTA & José Carlos ARMI-NANTE</p>	77-80

422	Cromatografia em fase gasosa de ácidos graxos de manteiga de cacau do Brasil <i>Gas-liquid chromatography of fatty acids in cocoa butter from Brazil</i> Maria Elisa Wohlers de ALMEIDA; Clara NAKANO & Elza Gastaldo BADOLATO	81-89
423	Avaliação da resposta imunológica em animais quando inoculados com <i>Neisseria meningitidis</i> dos grupos "A" e "C" <i>Evaluation of the immune response of animals inoculated with serogroups A and C Neisseria meningitidis</i> José Pascoal SIMONETTI; Augusta K. TAKEDA; Bruno SOERESSEN; Orivaldo ZIQUINATTI & Nereide B. BOSCARDIN	91-101
424	Toxoplasmose no Brasil. Levantamento bibliográfico de 1908 a 1975. <i>Toxoplasmosis in Brazil. Bibliographic survey from 1908 to 1975</i> Saburo HYAKUTAKE & Alderica Barbosa MEARIM	103-125
425	Utilização de vários tipos de fucsina básica no preparo do reativo de Schiff para coloração dos aldeídos em cortes de tecidos <i>Use of various brands of basic fuchsin in the preparation of the Schiff's reagent for staining of aldehydes in tissue sections</i> Evandro Pimenta de CAMPOS; Antonio James BRANDI; Adriana Manginelli MASSIGNANI & Nilza BAPTISTA	127-130
426	<i>Clostridium botulinum</i> en suelos del Estado Mérida, Venezuela <i>Clostridium botulinum in soils of Mérida state, Venezuela</i> Beatriz NIEVES & Roberto GABALDÓN P.	131-137
427	Anticorpos antipolisacarídeo de <i>Neisseria meningitidis</i> grupos A e C, em vacinados e em pacientes com doença meningocócica previamente vacinados ou não <i>Antibodies to polysaccharide of Neisseria meningitidis, serogroups A and C in normal vaccinated persons and in patients with meningococcal diseases previously vaccinated or not.</i> Augusta Kiyomi TAKEDA; Vinício Carlos ROSSI; José Manoel de Paiva DINIZ; Maria das Graças Fernandes ADELINO & Augusto de Escragnolle TAUNAY	139-146
INDICE DE AUTOR / AUTHOR INDEX		147
INDICE DE ASSUNTO / SUBJECT INDEX		148-151

REVISTA
DO
INSTITUTO
ADOLFO LUTZ

REDATOR RESPONSÁVEL

AUGUSTO DE ESCRAGNOLLE TAUNAY

Diretor do Instituto Adolfo Lutz

COMISSÃO DE REDAÇÃO

JOSÉ PAULO GONZAGA DE LACERDA

LUIZ FLORENCIO DE SALLES GOMES

MARCELO OSWALDO ALVARES CORRÊA

MÁRIO SCARPELLI

WALDOMIRO PREGNOLATTO

SECRETÁRIA-REDATORA

DÉBORA DOMINGUES ESTRELLA REBOCHO

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DOS SERVIÇOS TÉCNICOS ESPECIALIZADOS
INSTITUTO ADOLFO LUTZ
S. PAULO - BRASIL

Endereço / *Address*

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

Publicação anual / *Annual publication*

Solicita-se permuta / *Exchange desired*

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. São Paulo, SP —
Brasil, 1941-

1941-1974, **1-34**

1975/76, **35/36**



Os artigos publicados na *REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ* são indexados por Analytical Abstracts, Bibliografia Brasileira de Medicina, Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Excerpta Medica e Tropical Diseases Bulletin.

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. O título, traduzido para o inglês, deverá ser apresentado em folha à parte.

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 decretos (BRASIL. Sistema Nacional de Metrologia. *Decreto-lei n. 240 — de 28-2-1967, decreto n. 62.292 — de 22-2-1968 [e] decreto n. 63.233 — de 12-9-1968.* [Rio de Janeiro, Gb., Impr. nac., 1971] 48 p.).

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 de apresentação tabular" estabelecidas pelo Conselho Nacional de Estatística (FUNDAÇÃO IBGE — *Normas de apresentação tabular.* Rio de Janeiro, Gb., Serv. gráf. IBGE, 1972).

No corpo da tabela, nenhuma casa ficará vazia; segundo convenção internacional, a ausência de dados numéricos será representada por:

- | | |
|---------------------|--|
| — (traço) | quando o dado for nulo; |
| ... (três pontos) | quando não se dispuser do dado; |
| 0; 0,0; 0,00 (zero) | quando o valor numérico for menor do que a metade da unidade ou fração decimal adotada para a expressão do dado. |

ILUSTRAÇÕES (fotografias, gráficos, desenhos, mapas etc.) — Serão designadas no texto como “figuras” (Fig.); 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 reproduções dos mesmos.

RESUMOS — Serão apresentados um em português, antecedendo o texto, outro em inglês, 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 (*Boi. UNESCO Bibl.*, 23: 72-7, 1969). A fim de facilitar a indexação, o resumo deverá conter:

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

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

No texto — Serão citadas por meio de número índice correspondente ao da lista de referências; assim, para um autor... TAUNAY³¹ verificou...; para dois autores... LEME & CARRIJO¹⁹, pesquisando...; para mais de dois autores... No trabalho de TSUNODA *et alii*¹²; ou ainda... segundo vários autores^{1,3,7,8}.

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

Para artigos

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*, 1900-1960. 4th ed. London, Butlerworths, 1963-5. 3 v.), número do volume, número do fascículo (se a numeração não for continuada), páginas inicial e final, ano de publicação.

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. S. Paulo*, 15: 122-126, 1973.

Para livros

Último sobrenome do(s) autor(es) seguido das iniciais dos outros componentes do nome, título da obra, edição (se não for a primeira), tradução (se for o caso), local de publicação, nome do editor, ano de publicação, número da(s) página(s) consultada(s). Se a obra for em mais de um volume, citar também o número do volume.

Ex.

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

DA PUBLICAÇÃO

1. Os trabalhos destinados à publicação na Revista deverão ser encaminhados ao Setor de Publicações 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.
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. Na publicação do artigo, constará obrigatoriamente, em rodapé, a data de recebimento.
5. A primeira prova tipográfica será revisada pela secretária da Redação e conferida pelo autor, que a rubricará.
6. Os originais de trabalhos aceitos para publicação não serão devolvidos aos autores.
7. Os autores terão direito a 70 separatas; quando desejarem maior número, deverão entender-se previamente com a secretária da Revista.
8. *É proibida a reprodução no todo ou em parte de trabalhos publicados na Revista, sem prévia autorização do autor e do Diretor Geral do Instituto Adolfo Lutz. É permitida, entretanto, a reprodução de resumos, com a devida citação de fonte.*

ÍNDICE DE AUTOR / *AUTHOR INDEX*

- ADELINO, M.G.F., 139
ALMEIDA, M.E.W., 81
ARMINANTE, J.C., 77
ASHCAR, H., 41
AZEVEDO, A., 5
AZEVEDO, M.M., 41
BADOLATO, E.G., 81
BAPTISTA, N., 77, 127
BITTENCOURT, C.F., 23, 31
BOSCARDIN, N.B., 91
BRANDI, A.J., 77, 127
CAMPOS, E.P., 35, 41, 67, 77, 127
CORRÊ, M.O.A., 1
DALMORA, S.L., 31
DELLE CAVE, J., 41
DINIZ, J.M.P., 139
GABALDÓN P., R., 131
GELLI, D.S., 9
GRANER, C.A.F., 55
GUERRA, J.M.M., 41
HYAKUTAKE, S., 103
KAMEI, N.K., 63
KAMINSKI, C.W., 23
LARA, W.H., 17
MASSIGNANI, A.M., 35, 41, 77, 127
MEARIM, A.B., 103
MEIRA, D.R., 55
MUCCIOLO, P., 55
NAKANO, C., 81
NAZARIO, G., 47
NIEVES, B., 131
OTSUKA, J.M., 63
RIBEIRO, M.A., 63
ROSSI, V.C., 139
SILVA, F.R., 35
SILVA, T.M.P., 9
SILVEIRA, L., 5
SIMONETTI, J.P., 91
SOERESSEN, B., 91
TACHIBANA, C.F., 63
TACHIBANA, T., 9
TAKAHASHI, M.Y., 17
TAKEDA, A.K., 63, 91, 139
TAUNAY, A.E., 139
TOLEDO, M., 17, 47
WEINMANN, S., 5
ZUQUINATTI, O., 91

ÍNDICE DE ASSUNTO

- Ácido fostovanadomolibdico
na determinação de fósforo
em produtos de carne, 55
- Ácidos graxos, análise
determinação em manteiga de cacau
cromatografia em fase gasosa, 81
- Aldeídos
em tecido
coloração, 127
- Ancylostoma*, 5
- Ancilostomíase, Rio Grande
do Sul (Brasil), 5
- Ancilóstomos
Ancylostoma, 5
Necator, 5
- Cabelo (humano)
traços de metais, determinação
espectrofotometria de
absorção atômica, 47
- Café (bebida)
cobre, determinação
espectrofotometria de
absorção atômica, 17
- Café (torrado e moído)
cobre, determinação
espectrofotometria de
absorção atômica, 17
- Carcinoma *in situ*
no colo uterino
histopatologia, 67
- Carne, produtos
fósforo, determinação, 55
- Clostridium botulinum*
em solos de Mérida, Venezuela, 131
- Cobre, determinação
em café (bebida), 17
em café (torrado e moído), 17
- Colo uterino
carcinoma *in situ*, 67
condições pré-cancerosas, 67
- Coloração
aldeídos
em tecido, 127
tecido, 77
- Condições pré-cancerosas
colo uterino, 67
- Cromoblastomicose
em paciente com hanseníase, 41
- Dermatite verrucosa cromoparasitária
veja Cromoblastomicose
- Doença de Fox-Fordyce
diagnóstico histopatológico, 35
histoquímica, 35
nas axilas, 35
- Doença de Lane e Pedroso
veja Cromoblastomicose
- Doença de Pedroso e Carrion
veja Cromoblastomicose
- Figueira
veja Cromoblastomicose
- Fósforo, determinação
em produtos de carne, 55
- Hanseníase, 41
- Histopatologia
coloração de tecido, 77
- Imunoglobulinas (G, A, M) humanas
determinação quantitativa, 63

- Lepra
veja Hanseníase
- Leucofucsina
preparo, 127
- Manteiga de cacau
ácidos graxos, determinação
cromatografia em fase gasosa, 81
- Masson, método de
veja Método de Masson
- Meningite meningocócica, 139
- Metais, análise
traços, determinação
em cabelo (humano), 47
- Método de Masson, modificação
coloração de tecido, 77
- Milária apócrina
veja Doença de Fox-Fordyce
- Naftilazoderivados
- 4-[p-(2-pirimidilsulfamilo)fenilazo]-1-naftilamina, 23
- 4-[p-(2,6-dimetoxi-4-pirimidilsulfamilo)fenilazo]-1-naftilamina, 23
- 4-[p-(4,6 dimetil-2-pirimidilsulfamilo)fenilazo]-1-naftilamina, 23
- 4-[p-(5-metoxi-2-pirimidilsulfamilo)fenilazo]-1-naftilamina, 23
- Necator*, 5
- Necrológio
Samuel Barnsley Pessoa, 1
- Neisseria meningitidis*, 91, 139
sorogrupo A, 91, 139
imunogenicidade em animais, 91
sorogrupo C, 91, 139
imunogenicidade em animais, 91
- Ostras, São Paulo (Brasil)
Vibrio parahaemolyticus
isolamento, 9
- Phialophora verrucosa*, 41
- Polarografia, análise
naftilazoderivados, 23
- Produtos de carne
fósforo, determinação, 55
- Samuel Barnsley Pessoa, necrológio, 1
- Substâncias depressoras
em produtos farmacêuticos
contendo antibióticos, 31
- Toxoplasmose, Brasil
bibliografia brasileira, de 1908 a 1975, 103
- Vacina polissacarídica meningocócica, 139
- Vibrio parahaemolyticus*
isolamento
em ostras, São Paulo (Brasil), 9

SUBJECT INDEX

- Aldehydes
 in tissue
 staining, 127
- Ancylostoma*, 5
- Ancylostomae*
 Ancylostoma, 5
 Necator, 5
- Ancylostomiasis, Rio Grande
 do Sul (Brazil), 5
- Carcinoma in situ
 in the cervix uteri
 histopathology, 67
- Cervix uteri
 carcinoma in situ, 67
 precancerous conditions, 67
- Chromoblastomycosis
 in patient with leprosy, 41
- Clostridium botulinum*
 in soils of Mérida, Venezuela, 131
- Cocoa butter
 fatty acids determination
 gas-liquid chromatography, 81
- Coffee (drink)
 copper determination
 atomic absorption spectrometry, 17
- Coffee (roasted and ground)
 copper determination
 atomic absorption spectrometry, 17
- Copper, determination
 in coffee (drink), 16
 in coffee (roasted and ground), 17
- Depressing substances
 in pharmaceuticals containing
 antibiotics, 31
- Dermatitis, verrucosa
 see Chromoblastomycosis
- Fatty acids, analysis
 determination in cocoa butter
 gas-liquid chromatography, 81
- Figueira
 see Chromoblastomycosis
- Fox-Fordyce disease
 diagnosis, histopathologic, 35
 histochemistry, 35
 in axillae, 35
- Hair (human)
 metal traces, determination
 atomic absorption spectrometry, 47
- Hanseniasis
 see Leprosy
- Histopathology
 tissue staining, 77
- Immunoglobulins (G, A, M), human
 quantitative determination, 63
- Lane and Pedroso's disease
 see Chromoblastomycosis
- Leprosy, 41
- Leucofuchsin
 preparation, 127
- Masson's method, modification
 for tissue staining, 77
- Meat products
 phosphorus determination, 55
- Meningitis, meningococcic, 139

- Metals, analysis
traces, determination
in hair (human), 47
- Miliaria apocrina
see Fox-Fordyce disease
- Molybdovanadophosphoric acid
to determine phosphorus
in meat products, 53
- Naphthylazoderivates
4-[p-(2-pyrimidylsulphamyl)phenylazo]-1-naphthylamine, 23
4-[p-(2,6-dimethoxy-4-pyrimidylsulphamyl)phenylazo]-1-naphthylamine, 23
4-[p-(4,6-dimethyl-2-pyrimidylsulphamyl)phenylazo]-1-naphthylamine, 23
4-[p-(5-methoxy-2-pyrimidylsulphamyl)phenylazo]-1-naphthylamine, 23
- Necator*, 5
- Necrology
Samuel Barnsley Pessôa, 1
- Neisseria meningitidis*, 91, 139
serogroup A, 91, 139
immunogenicity in animals, 91
serogroup C, 91, 139
immunogenicity in animals, 91
- Oysters, São Paulo (Brazil)
Vibrio parahaemolyticus
isolation, 9
- Pedroso and Carrion's disease
see Chromoblastomycosis
- Phialophora verrucosa*, 41
- Phosphorus, determination
in meat products, 55
- Polarography, analysis
naphthylazoderivates, 23
- Precancerous conditions
cervix uteri, 67
- Samuel Barnsley Pessôa, necrology, 1
- Staining
aldehydes
in tissue, 127
tissue, 77
- Toxoplasmosis, Brazil
Brazilian bibliography from 1908
to 1975, 103
- Vaccines
meningococcal polysaccharide, 139
- Vibrio parahaemolyticus*
isolation
in oysters, São Paulo (Brazil), 9

COMPOSIÇÃO E IMPRESSÃO
TIPOGRAFIA FONSECA LTDA.
CGC 61.276.648/0001-80
RUA CORIOLANO, 962
FONE: 62-5205
SÃO PAULO



PROFESSOR SAMUEL BARNSLEY PESSÔA

Aos 3 de setembro de 1976 faleceu em São Paulo o Professor Samuel Barnsley Pessoa fundador da maior Escola de Parasitologia Médica que floresceu e frutificou em nosso país com projeção e conotações internacionais.

Nascido aos 31 de maio de 1898 em São Paulo, filho de Leonel Pessoa, médico, e D.^a Anna Barnsley Pessoa, efetuou seus estudos no Ginásio Anglo-Brasileiro, prestando exames parcelados de admissão à Faculdade de Medicina e Cirurgia de São Paulo, onde se matriculou em 1916.

Em 1922 doutorou-se em Medicina defendendo tese sobre "Estudo dos componentes de óleo essencial de chenopódio. Sua aplicação na profilaxia da Ancylostomose".

Em 1923 foi nomeado inspetor sanitário sendo-lhe confiada a direção de um Posto Experimental anexo aos Serviços de Profilaxia Geral do Estado de São Paulo. A observação dos excelentes resultados proporcionados por este Posto foi a motivação para a criação dos Centros de Saúde de São Paulo. Em 1925, como assistente do então Instituto de Higiene de São Paulo, organizou a Seção de Parasitologia aplicada à Higiene.

Em março de 1926 recebeu o título de Docente Livre da Cadeira de Higiene da Faculdade de Medicina de São Paulo; em julho de 1927 foi para a Europa a convite da Seção de Higiene da Sociedade das Nações, percorrendo os Serviços Antimaláricos e demais Instituições Científicas da Iugoslávia, Itália e Espanha.

Em Hamburgo, frequentou o curso de Medicina Tropical e, em Paris, estagiou no Laboratório de Parasitologia do Prof. E. Brumpt.

Em 1929 organizou o Serviço de Higiene e Laboratório Clínico da Companhia Paulista de Estradas de Ferro retornando, em fevereiro de 1930, às suas funções no Instituto de Higiene.

Após memorável concurso, aos 17 de abril de 1931 assumiu a cátedra de Parasitologia da Faculdade de Medicina de São Paulo, que dirigiu pelo espaço de 24 anos, imprimindo às suas atividades características próprias que, a largos traços, assim podem ser resumidas:

sábia orientação de não divorciar o ensino da pesquisa, realizando ambas as atividades paralelamente, sem hipertrofiar uma em detrimento da outra pois, em verdade, só pode ensinar bem o professor que investiga, da mesma maneira que o pesquisador encontra no ensino um fator estimulante ao seu trabalho de investigação;

entranhado amor pelo estudo e solução das endemias parasitárias que constituem o núcleo básico dos problemas médico-sociais brasileiros. No exercício deste mister, em íntimo contacto com as populações urbanas ou rurais parasitadas, foi levado a estudar outros fatores associados, tais como os diferentes tipos de desnutrição, os hábitos alimentares, o clima e o microclima, as condições de trabalho e de higiene; não se limitava pois às variáveis condicionantes das parasitoses humanas mas, sempre que necessário, identificava e quantificava todas essas variáveis, desde os fatos biológicos e bioquímicos até os fatos sócio-econômicos, o que implicava em enorme esforço de trabalho;

preocupação permanente em despertar vocações em pesquisadores e em fazer discípulos, orientando-os como verdadeiro chefe de Escola, permitindo a cada assistente, a cada auxiliar, desenvolver-se com autonomia em função de suas características próprias à luz de sua larga experiência; formou assim a maior Escola em Parasitologia da América Latina, caracterizada por parâmetros de elevado nível técnico-científico, ímpar criatividade com estabelecimento de inúmeras linhas de pesquisa, e por incondicional reverência às populações portadoras de parasitoses, no sentido social e humanístico, como beneficiários da pesquisa científica.

Em atitude da maior raridade, a fim de prestigiar a renovação no Departamento de Parasitologia que dirigia, deixou a cátedra em 1955, ocasião em que recebeu da Congregação da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo o título de Professor Emérito.

Em 1936 foi galardoado com o título de Professor "Honoris Causa" pela Faculdade de Medicina do Recife. Idêntica distinção recebeu em 1952, 1969 e 1970 das Faculdades de Medicina da Paraíba, da Universidade Federal de Goiás e da Faculdade de Medicina de Itajubá.

Ao discursar na solenidade inaugural da Faculdade de Medicina da Paraíba, em 15-3-1952, ocasião em que recebeu o título de Professor "Honoris Causa", encerrou-o com comovente homenagem de amor filial:

"Na segunda metade do século passado, um menino paraibano que há pouco acabava de perder a mãe, e pobre, como a maioria dos meninos do Nordeste, deixava Bananeiras, sua terra natal, para tentar a vida no sul do país. Fêz seu curso médico no Rio de Janeiro, parte como caixeiro de loja, parte como interno dos hospitais. Mudando-se para São Paulo, clinicou muitos anos no Interior e na Capital e lá constituiu numerosa família. Um dos seus filhos, que vós neste momento

cumulais com as palmas de vossa generosidade, volta agora às terras de seus ancestrais e, cercado de tanto carinho e amizade, pode compreender porque seu pai, até morrer, sempre falava com saudade da sua doce Paraíba. Esta recordação, como elo suave, ainda mais me prende à vossa terra hospitaleira”.

Foi presidente honorário da Federação Latino-Americana de Parasitologia, membro honorário da Sociedade Mexicana de Parasitologia, da Sociedade Brasileira de Parasitologia, da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, da Sociedade Argentina de Parasitologia e “Honorary Fellow” da Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene da Inglaterra, sendo desde 1974 o único brasileiro e sul-americano a receber esta distinção, atribuída desde 1907 a apenas 51 cientistas de renome mundial, tais como Erlich, Golgi, Finlay, Shiga, Brumpt, Schweitzer, etc.

Inúmeros prêmios, medalhas e honrarias outras recebeu ainda o eminente cientista que publicou 17 livros e monografias e cerca de 350 trabalhos científicos, além de 59 artigos que escreveu para jornais ou revistas. A sua “Parasitologia Médica” se constituiu, através dos anos e com atualizações sucessivas, na grande fonte de estudos de Parasitologia nas escolas médicas de nosso país. Foi ainda um grande sanitarista, emérito educador sanitário, pioneiro da Medicina Social e da Geografia Médica dentre nós e um dos primeiros pesquisadores nacionais que procuraram mostrar as relações entre ecologia e doenças parasitárias.

Foi escolhido como paraninjo pelos doutorandos de 1940 da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo — a primeira vez em que um professor das cadeiras básicas foi distinguido com essa homenagem. De seu discurso disse que, se fosse praxe dar título, denomina-lo-ia: “Sobre a necessidade de médicos rurais para o Brasil” ou então “Sobre a necessidade urgente de assistência médica e higiênica às populações rurais brasileiras”; depois de pintar o quadro impressionante das doenças parasitárias, da desnutrição, do analfabetismo e das condições de trabalho desumanas da população de uma zona de desbravamento deste Estado, onde se desenvolviam os trabalhos da Comissão de Estudos da Leishmaniose a qual chefiava, desde 1939, terminou sua corajosa e realista oração com este apelo, aos seus doutorandos, que continha a motivação básica de sua atividade profissional:

“Vede, meus jovens colegas, os nossos irmãos do sertão: sob o clima brando e puro dos campos e das matas; em contacto com a terra boa e bemfazeja, que produz os mais ricos alimentos nas matas e florestas, nos campos e montanhas — morrendo, mal ao nascer, degenerando, se alcançam a idade adulta — assolados por moléstias erradamente denominadas tropicais, de fácil prevenção e mais fácil cura ainda.

Nós, que tivemos a felicidade de receber o benefício da civilização e da cultura, que nos permitiu retemperar o corpo e alçar o intelecto, devemos nos dedicar até o sacrifício, no desejo constante de fazer deste país terra verdadeiramente generosa, não somente para alguns, porém para todos os seus filhos.

Trabalhai pois, meus amigos, porém trabalhai por este alto e nobre ideal — o melhoramento da saúde de nosso povo; é êle um grande e imperioso dever social ao qual vos não podeis eximir.

É o que esperamos de todos vós — o trabalho, o penoso trabalho — fonte de mérito e base de toda dignidade humana; pois “só o trabalho dá a liberdade e cada trabalhador é uma força social” (Ingenieros).

Sede a mais eficiente, a mais poderosa e a maior das forças sociais, para a saúde e redenção do Brasil.”

A turma de 1940 honrou seu paraninfo produzindo mais de vinte professores titulares de várias Universidades do Brasil, além de destacados profissionais em numerosos ramos da medicina.

Em 1965, convidado por Ariosto Büller Souto, então Diretor do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, pôde o Prof. Samuel Barnsley Pessoa, reencetar suas pesquisas desde então voltadas para parasitas de animais, em particular de hemoparasitas. Nesse mesmo ano foi homenageado pelo nosso Instituto ao ser agraciado com o diploma e Medalha "Adolfo Lutz" conferidos pelo Governo do Estado de São Paulo, ao ensejo do Jubileu de Prata do Instituto Adolfo Lutz.

Acolheu-o também em seus laboratórios o Instituto Butantan. Em ambas as instituições sua produção científica alcançou cerca de 50 publicações das quais as últimas ainda estão no prelo, a traduzir a sua insaciável sede de pesquisar e de despertar vocações até seus últimos dias, quando chegava ao Instituto caminhando com dificuldade, arrastando suas pernas cansadas de tantas caminhadas por estes brasis afora, com o indefectível boné na cabeça, as grossas lentes dos óculos a aumentar-lhe os olhos, através dos quais se percebia a mente ágil e lúcida iluminada pela chama da bondade, do calor humano que provinha do mais íntimo de sua alma.

Em suma, foi um laborioso operário da messe de Deus que cumpriu integralmente sua missão neste mundo, apóstolo que foi do amor ao próximo traduzido por sua intensa atividade como professor universitário de tantas Faculdades, pesquisador emérito das múltiplas facetas das doenças parasitárias de nossos irmãos de todo este imenso país, e cidadão brasileiro exemplar.

São Paulo, 3 outubro de 1976.

Marcelo O. A. Corrêa

INCIDÊNCIA DOS HELMINTOS CAUSADORES DA ANCILOSTOMÍASE HUMANA EM SANTA MARIA, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

Astrogildo AZEVEDO *
Léo SILVEIRA **
Sérgio WEINMANN **

RIAL-A/410

AZEVEDO, A.; SILVEIRA, L. & WEINMANN, S. — Incidência dos helmintos causadores da ancilostomíase humana em Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 5-7, 1975/76.

RESUMO: Pelo estudo morfológico das larvas filarióides obtidas por cultura, foi verificado, em Santa Maria, que a ancilostomíase é causada em 94% dos casos por *Necator*, 2% por *Ancylostoma* e, em 4%, por ambos os gêneros.

DESCRITORES: *Ancylostoma*; *Necator*; ancilostomíase no Rio Grande do Sul, Brasil.

INTRODUÇÃO

O parasitismo por *Ancylostoma* e *Necator* tem sido denominado de ancilostomíase. Esta helmintíase tem ampla distribuição geográfica. No Brasil, em 2.440.467 coproscopias realizadas pelo DNERu (1968) foi verificada uma positividade, para ancilostomídeos, de 619.832 (28,23%)¹.

No Estado do Rio Grande do Sul, inquéritos coproscópicos em diferentes regiões mostram índices que variam de 8 a 80% (PELLON & TEIXEIRA⁴, 1963). Em Santa Maria, a taxa de infestação por estes helmintos variou de 12,98 a 30,2% (Leal, 1962; CARVALHO², 1966 e ROCHA⁶, 1968).

O objetivo desta publicação foi verificar a prevalência de *Ancylostoma* e *Necator* em Santa Maria, pelo estudo diferencial da morfologia das larvas filarióides obtidas por cultura.

MATERIAL E MÉTODO

Durante três meses foram realizados exames de fezes, usando diferentes técnicas de enriquecimento (Faust, Telemann e Willis-Mollay), sendo encontradas 100 amostras positivas para ancilostomídeos. Estas amostras foram submetidas a cultura e extração das larvas pelo método de ROBERT'S & O'SULLIVAN⁵, 1950).

* Realizado na Seção de Parasitologia Humana do Departamento de Patologia da Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul.

** Do Departamento de Patologia da Universidade Federal de Santa Maria.

Após a extração, as larvas filarióides foram colocadas em lâminas, imobilizadas com dicloridrato de piperazina a 6% (SANTIAGO⁷, 1972) e recobertas com laminulas.

A diferenciação genérica baseou-se nos seguintes caracteres: estruturas da cavidade bucal, estriações da bainha e comprometimento total das larvas (SILVA⁸, 1974).

RESULTADOS

Nas 100 amostras de fezes foram identificadas, em 94%, larvas de *Necator*, em 2%, larvas de *Ancylostoma* e, em 4%, larvas de *Ancylostoma* e *Necator*.

COMENTÁRIOS

Os nematódeos do homem, com exce-

ção de *Ancylostoma* e *Necator*, são identificados especialmente nos exames laboratoriais de rotina. SOOD *et alii*⁹ (1972), comparando a morfologia de ovos e larvas com a dos helmintos adultos, verificaram que somente a caracterização da larva filarióide é processo seguro para a diferenciação entre *Ancylostoma* e *Necator*.

Utilizando este processo, verificamos a incidência destes helmintos causadores da ancilostomíase humana em Santa Maria.

Agradecimentos

Aos Profs. Drs. Albert Thomas Londero e Marco Aurelio Miranda Santiago pela orientação recebida na realização do presente trabalho.

RIAL-A/410

AZEVEDO, A.; SILVEIRA, L. & WEINMANN, S. — Incidence of helminths causing human ancyllostomiasis in Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 5-7, 1975/76.

SUMMARY: Through the morphologic study of filaricid larvae obtained from cultures, it was verified that in the city of Santa Maria, RS, ancyllostomiasis is caused by *Necator* in 94% of the cases; by *Ancylostoma* in 2% and in the remaining 4% the disease is caused by both these worms.

DESCRIPTORS: *Ancylostoma*; *Necator*; ancyllostomiasis in Rio Grande do Sul, Brazil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Departamento Nacional de Endemias Rurais apud CAMILLO-MOURA, L. — *Contribuição ao estudo das geohelminthiases*. Rio de Janeiro, 1970. [Tese — Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro]
- CARVALHO, O.A. & MOREIRA, L.S. — O inquérito coproparasitológico no Ambulatório de Pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Santa Maria. *Rev. Fac. Farm. Bioq. S. Maria*, 12: 103-7, 1966.
- MORAES, L.L.; SANTOS, Z.L.; SCOTTI, S. & SILVA, R.V.F.F. — Levantamento coproparasitológico entre escolares da zona rural do Município de Santa Maria (R.G.S.). *Rev. Fac. Farm. Bioq. S. Maria*, 10: 83-96, 1964.
- PELLON, A.B. & TEIXEIRA, I. — O inquérito helmintológico escolar de cinco Estados das Regiões Leste, Sul e Centro-Oeste. [Apresentado ao Congresso Brasileiro de Higiene, 2.º, Curitiba, 1963]

AZEVEDO, A.; SILVEIRA, L. & WEINMANN, S. — Incidência dos helmintos causadores da ancilostomíase humana em Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 5-7, 1975/76.

5. ROBERT'S, E.H.S. & O'SULLIVAN, P.J. — Methods for counts and larval cultures for strongyles infesting the gastro-intestinal tract of cattle. *Aust. J. agric. Res.*, 1: 99-102, 1950.
6. ROCHA, L.P. — Levantamento coproparasitológico no ambulatório de triagem de clínica médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Santa Maria. *Hospital (Rio de J.)*, 74: 1817-21, 1968.
7. SANTIAGO, M.A.M. — *Identificação das larvas dos nematódeos parasitas dos ruminantes*. São Paulo, Johnson & Johnson, 1972.
8. SILVA, C.A.D. — *Método simples para cultivo e identificação de larvas de ancilostomídeos*. Florianópolis, 1974. [Tese — Universidade Federal de Santa Catarina]
9. SOOD, P.; BHUJWALA, R.A. & PRAKASH, O. — The size of hookworm ova as a criterion for differentiating *A. duodenale* from *N. americanus*. *Indian J. med. Res.*, 60: 1010-5, 1972.

Recebido para publicação em 25 de abril de 1975.

OCORRÊNCIA DE *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* EM OSTRAS E
OUTROS PRODUTOS MARINHOS NO LITORAL DE SÃO PAULO,
BRASIL. REVISÃO E CONSIDERAÇÕES SOBRE O RISCO
POTENCIAL PARA A SAÚDE PÚBLICA *

Dilma Scala GELLI **
Takako TACHIBANA **
Theodósio M.P. SILVA **

RIAL-A/411

GELLI, D. S.; TACHIBANA, T. & SILVA, T. M. P. — Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* em ostras e outros produtos marinhos no litoral de São Paulo, Brasil. Revisão e considerações sobre o risco potencial para a saúde pública. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 9-16, 1975/76.

RESUMO: Foi pesquisada a incidência de *Vibrio parahaemolyticus* em 101 amostras, sendo 12 de peixes, 5 de mariscos, 6 de camarões, 70 de ostras e 8 de água do mar (região costeira), encontrando-se 75 amostras positivas, assim distribuídas: 5 de peixes, 2 de mariscos, 3 de camarões, 6 de água do mar e 39 de ostras; 40 cepas, que foram sorotipadas pela Food and Drug Administration, Department of Health, Education and Welfare, dos Estados Unidos, eram não hemolíticas e, dentre elas, encontraram-se 17 tipos sorológicos diferentes. Os resultados são discutidos com base na revisão da literatura pertinente à disseminação e patogenicidade desse microrganismo.

DESCRITORES: *Vibrio parahaemolyticus*, isolamento em ostras e outros produtos do mar (São Paulo, Brasil).

I N T R O D U Ç Ã O

O *Vibrio parahemolyticus* é um microrganismo Gram-negativo, halófilo, aeróbio facultativo. O seu desenvolvimento é favorecido quando se acresce ao meio de cultura 2 a 4% de cloreto de sódio, e sua multiplicação é intensa a 37°C e em temperaturas ambientes. É facilmente destruído pelo calor e, portanto, pela cocção⁶.

A primeira descrição dessa bactéria foi feita por T. Fujino (1951), que a denominou de *Pasteurella parahaemolyticus*. Em 1958, Takikawa sugeriu o nome de *Pseudomonas enteritis*; Miyamoto propôs a criação de um novo gênero — *Oceanomonas* — com as espécies *O. parahaemolyticus*, *O. enteritis* e *O. alginolyticus*. R. Sakazaki, em estudos posteriores, verificou a semelhança dessa bactéria com as bactérias do

* Trabalho realizado na Seção de Microbiologia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P.

** Da Seção de Microbiologia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz.

gênero *Vibrio*, e propôs a designação de *Vibrio parahaemolyticus*, que permanece 10, 22, 28.

Ubiquitário dos ambientes marinhos, o *Vibrio parahaemolyticus* parece ser capaz de se multiplicar em águas salgadas sem a concorrência de um animal hospedeiro¹⁰. Tem sido isolado repetidamente em amostras de águas costeiras e de estuários, em sedimentos marinhos, peixes, crustáceos e moluscos, na quase totalidade dos oceanos, de locais reconhecidamente poluídos ou não 3, 8, 10, 15, 19, 20, 22, 23. O número desses microrganismos tem distribuição sazonal, maior nos períodos quentes do ano. Conseqüentemente, deve ser quantitativamente maior a presença de *Vibrio parahaemolyticus* nas costas dos países de clima quente e temperado 8, 10, 19, 23, 28.

Também, repetidamente, esse organismo tem sido isolado e apontado como agente causal de gastroenterite e responsabilizado por surtos de toxi-infecções alimentares 1, 2, 4, 11, 16, 21, 25, 29. A primeira descrição de infecção entérica foi realizada por Fujino (1951), na investigação de surto provocado pelo consumo de *shirasu* contaminado, no Japão¹³. Nesse país, a infecção por *Vibrio parahaemolyticus* é significativamente alta (40-70% dentre todas as infecções bacterianas) sem dúvida por causa dos hábitos alimentares típicos de consumo de produtos pescados não cozidos^{13, 29}. Porém, ocorrências semelhantes, embora menos freqüentes, têm sido descritas em outros países (Inglaterra, Índia, Estados Unidos, Coreia, Malásia, Panamá, Togo, Nova Zelândia etc.).

O quadro clínico desenvolvido, quando da infecção gastrentérica pelo *Vibrio parahaemolyticus*, é de moderada gravidade, com a apresentação dos primeiros sintomas, 6-24 horas após o consumo do alimento infectante, e inclui dores epigástricas violentas, náuseas, vômitos, diarreia (com presença de muco e sangue nas fezes), febre, dor de cabeça e calafrios. Esses sintomas, em geral, regredem em 1-3 dias 2, 5, 7, 21, 25, 29, porém o quadro clínico

co pode se agravar e confundir-se com o da diarreia colérica 4, 28, 29. Outras infecções como septicemias, otites e ulcerações de pele^{10, 29} ocorrem, assim como infecções por acidentes laboratoriais³². A pesquisa da origem da infecção conduz sempre aos ambientes marinhos.

A classificação antigênica do *Vibrio parahaemolyticus* é feita com base no antígeno somático "O" e no antígeno capsular "K". Os antígenos flagelares (H) são destituídos de importância na sua identificação, uma vez que não são específicos da espécie, mas comuns também a outras espécies do gênero *Vibrio*. Reconhecem-se, até o momento, 11 diferentes antígenos "O" e 53 antígenos "K"; porém, o número de cepas ainda não caracterizadas sorologicamente é extenso^{10, 29}. Essa identificação, à parte de sua importância epidemiológica, não fornece nenhum dado seguro acerca da virulência das cepas; qualquer sorotipo é potencialmente capaz de provocar infecção.

Em seu estudo pioneiro, Fujino denominou a bactéria, por ele isolada, de altamente tóxica, capaz de provocar a morte em camundongos que ingeriram ou foram inoculados experimentalmente com células viáveis e, reações severas, quando testada em alça ligada de íleo de coelho¹⁴.

Caracteristicamente importante foi a detecção de produção de hemolisinas, que não obedece a uma distribuição geral entre as cepas; determinados *V. parahaemolyticus*, independentemente do sorotipo, são capazes de produzir hemólise do tipo beta, quando inoculados em ágar-sangue de Wagatsuma (meio básico específico acrescido de hemácias humanas) e incubados por 18-24 horas, a 35°C; o teste foi denominado de Kanagawa^{10, 28, 29}. SAKURAI *et alii* e SAKAZAKI³⁰ demonstraram a existência de mais de uma hemolisina; as cepas Kanagawa positivas, hemolíticas, são comuns sobretudo entre os isolamentos de material fecal de doentes, e as negativas, não hemolíticas, entre os do material obtido do meio ambiente^{10, 28, 29, 33, 34}. Correlacionou-se, então, o fenômeno de Kanagawa diretamente com a virulência desse agente:

as cepas hemolíticas, designadas de virulentas e as não hemolíticas, de avirulentas. Na tentativa de se aclarar o mecanismo de atuação patogênica, surgiram várias hipóteses, como a da possibilidade de "conversão" ou "seleção" para as virulentas no próprio trato intestinal^{7, 10, 28, 29}.

As pesquisas com o fito de determinar qual das hemolisinas, ou se o conjunto delas se relacionava diretamente com o fenômeno de virulência, não foram bem sucedidas por todos os pesquisadores, e o conjunto dos resultados evidenciou várias divergências. Extratos purificados dessas enzimas nem sempre provocaram as mesmas reações nos múltiplos ensaios efetuados, quando da administração de células viáveis (inoculação intraperitoneal de ratos, em alça ligada do íleo de coelho, em duodeno de cão, por ingestão, e pelo teste de edema de pata de camundongo). Essa controvérsia foi acentuada pela sucessão de descrições de infecções, com isolamento de cepas não hemolíticas, que se apresentavam com gravidade compatível com as infecções provocadas por cepas Kanagawa positivas^{26, 28, 29}.

Vários pesquisadores sugerem a necessidade da ingestão de doses infectantes para que a instalação clínica da infecção ocorra. Em experiências com voluntários, uma dose de 3×10^5 células viáveis/ml de cepas Kanagawa positivas foi admitida como suficiente; enquanto doses de mais de 10^9 células viáveis/ml de cepas não hemolíticas não o foram²⁹. Twedt e colaboradores, em ensaios com alça ligada de íleo de coelho, observaram que há um período de incubação menor quando da inoculação de doses maiores do agente, incluindo-se testes com cepas Kanagawa negativas e com as de *Vibrio alginolyticus* (também ubiqüitário de ambientes marinhos, porém nunca isolado de infecções humanas)^{33, 34}. Kato e colaboradores observaram que cepas hemolíticas, desprovidas de antígeno "K", comportam-se como as não hemolíticas; sobretudo,

as cepas Kanagawa negativas, isoladas de material humano (fezes diarréicas e material de autópsia), mostram-se igualmente não reativas em experimentos com animais de laboratório.

Em trabalhos recentes, Twedt e colaboradores concluíram que as reações em ensaios experimentais são determinadas por porções íntimas da estrutura celular do *V. parahaemolyticus* e que esse fator de patogenicidade, quando testado pelas partículas lisadas de células, parece ser afetado por forças iônicas, neutralizáveis por diálise. Seus estudos atuais visam averiguar se esse fator é plasmídeo-dependente*. Portanto, qualquer que seja o princípio virulento desse agente, ainda falta a sua identificação e caracterização bioquímica definida.

Apesar dos numerosos trabalhos, nem sempre concordantes, o fato primeiro e importante é que o *Vibrio parahaemolyticus* é agente freqüente de toxi-infecções alimentares, podendo apresentar outros tipos de infecção¹¹. São comuns descrições da detecção e ocorrência desse agente numa dada região, seguida a curto prazo de relatos de infecções humanas, a exemplo do que ocorreu na Inglaterra^{1, 15}, Estados Unidos^{10, 11}, Panamá^{20, 21} e Coreia⁸. Não se sabe se existe sensibilidade individual ao agente, ou se podem ocorrer imunizações naturais; porém os relatos de casos humanos se sucedem, em que crianças, jovens e adultos são afetados, praticamente em todas as regiões (países de clima quente, temperado e frio, respectivamente), e em populações que apresentam hábitos alimentares os mais diversos. Isso porque, apesar de o *Vibrio parahaemolyticus* ser restrito a ambientes marinhos, nada o impede de infectar outra classe de alimentos, desde que presente num ambiente de cozinha, nem de reinfetar um produto pescado já cozido.

* Comunicação pessoal por carta de 9 de julho de 1975

A presença do *Vibrio parahaemolyticus* entre nós já foi apontada por HOFER & SILVA¹⁵, e LEITÃO & ARIMA²², que trabalharam respectivamente com peixe e com águas e sedimentos de origem marinha.

Considerando o já exposto, decidimos então pesquisar esse agente em produtos do mar, especialmente em ostras, que são excelentes sentinelas das condições sanitárias do ambiente que as rodeia, devido ao sistema biológico de captação de alimentos por membranas, o que permite retenção e concentração de partículas pequenas, como as bactérias, em seus corpos¹⁸. Também não utilizamos materiais que tivessem sofrido quaisquer tipos de tratamento (depuração ou processamento); limitamo-nos à análise qualitativa, com programação de se complementarem os dados, posteriormente, com quantificação do agente nas amostras não tratadas, com o objetivo de determinar a carga de *Vibrio parahaemolyticus* nesse material.

No presente trabalho, relatamos os resultados obtidos. O possível risco para a Saúde Pública também é considerado.

MATERIAL E MÉTODOS

Usaram-se 70 amostras de ostras, 12 de peixes, 5 de mariscos, 6 de camarões e 8 de água do mar (região costeira), num total de 101 amostras.

O método empregado foi o preconizado no manual fornecido pela Food and Drug Administration⁹, e de acordo com trabalho de FISHBEIN & WENTZ¹².

Procedeu-se ao seguinte esquema de trabalho:

a) Inoculação de 10 g ou 10 ml do material em frascos com 100 ml de GSTB (glucose salt teepol broht), como meio seletivo de enriquecimento, e incubação por 18-24 horas, a 35°C;

b) Após a inoculação, o caldo foi semeado em placas de TCBS (thiosulfate citrate bile sucrose agar*), pelo método de estrias e com o auxílio de alça em cabo de Kolle, incubando-se por 18-24 horas, a 35°C;

c) As colônias típicas desenvolvidas foram isoladas em meio de Rugai²⁷, com 3% de cloreto de sódio, substituindo o meio TSI (triple sugar iron), sem prejuízos técnicos e com a vantagem da indicação de produção de indol;

d) As cepas presuntivas de *Vibrio parahaemolyticus* foram então testadas frente ao Gram e por provas bioquímicas;

e) 40 cepas com comportamento da espécie foram enviadas à Food and Drug Administration, para os Drs. Fishbein e Wentz, que confirmaram nossos resultados de identificação, complementando-os com o teste de Kanagawa e com a caracterização serológica.

RESULTADOS

A caracterização do *Vibrio parahaemolyticus* foi obtida pelas seguintes reações:

a) Coloração de Gram: bacilos Gram-negativos, com morfologia típica de Vibrião;

b) TCBS: colônias típicas (verde-azuladas, com aproximadamente 3 mm de diâmetro);

c) Comportamento em meio de Rugai, com 3% de cloreto de sódio: alcalina no ápice, ácido na base, sem gás, com indol positivo;

d) Halofilismo: ausência de crescimento em caldo com 0% e 10% de cloreto de sódio, e crescimento em caldo com 6% e 8% de cloreto de sódio;

e) Incubação a 42°C: crescimento positivo;

f) Fermentação da glicose, sem produ-

* Difco Laboratories, U.S.A.

ção de gás, pelo método de Hugh Leifson;
 g) Fermentação da celobiose, maltose, manita e trealose;
 h) Não fermentação da sacarose, inosita e dulcita;
 i) Motilidade: positiva;
 j) Citocromo-oxidase: positiva;
 l) Indol: positivo;
 m) Descarboxilação da lisina e ornitina;
 n) Arginina: negativa;

o) Voges Proskauer: negativa;
 p) Teste de Kanagawa: negativo; 40 das cepas testadas não apresentaram hemolisinas (Kanagawa-negativas).

Dentre as 101 amostras de material analisado, 75 (74,25%) foram positivas para *Vibrio parahaemolyticus*. A incidência por material teve a seguinte distribuição (tabela 1):

TABELA 1

Amostras positivas para Vibrio parahaemolyticus

Amostras	N.º analisado	Positivas	Porcentagem
Ostras	70	59	84,28
Peixe	12	5	41,66
Água do mar	8	6	75,00
Camarão	6	3	50,00
Marisco	5	2	40,00
T o t a l	101	75	74,25

Pela identificação sorológica, realizada em 40 dentre as cepas isoladas, encontraram-se 17 sorotipos diferentes (tabela 2):

TABELA 2
Identificação sorológica

Sorotipos	N.º	Porcentagem
05: K 17	7	17,50
04: K não tipável	5	12,50
01: K 25	4	10,00
03: K 33	3	7,50
04: K 42	3	7,50
010: K 24	3	7,50
01: K 32	2	5,00
010: K não tipável	2	5,00
011: K 50	2	5,00
03: K 31	2	5,00
01: K 38	1	2,50
03: K 6	1	2,50
03: K 30	1	2,50
04: K 53	1	2,50
06: K 18	1	2,50
07: K 19	1	2,50
011: K não tipável	1	2,50
T o t a l	40	100,00

Como era esperado, todos os sorotipos identificados estavam presentes nos isolados de ostras, sendo os mais frequentes os scrotipos 05: K 17, 04: K não tipável e 03: K 33.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Nossos achados revelam a alta incidência do *Vibrio parahaemolyticus* (74,25% das amostras analisadas), assim como a multiplicidade dos sorotipos (17 sorotipos em 40 cepas). Embora não concordantes com a distribuição da frequência obtida por LEITÃO & ARIMA²², os dois resultados somados sugerem que a população dessa bactéria pode variar quando se consideram áreas diferentes de uma mesma região (trabalhamos com materiais oriundos de Cananéia, enquanto Leitão analisou a região estuária de Santos), e que existe realmente diversidade de identidades sorológicas em nosso meio.

Apesar de em ambos os trabalhos as cepas isoladas não serem hemolíticas, não está excluída a possibilidade de uma toxinfecção humana. Como já mencionado, as cepas isoladas do ambiente são em geral Kanagawa negativas, nas mesmas regiões onde são freqüentes e bem conhecidas as infecções por essa etiologia. Ademais, há descrições de casos por cepas não hemolíticas, e de isolamentos de *Vibrio parahaemolyticus* Kanagawa negativos nas fezes de afetados, com concomitante presença de cepas Kanagawa negativas nos alimentos veiculadores da infecção. Sobretudo, não existem dados oficiais da ocorrência de problemas gastrentéricos por essa etiologia, na literatura do país. Não sabemos se houve casos no passado atribuídos, na época, a outras entidades.

Como sempre, a formulação da questão do provável papel patogênico de um microrganismo numa comunidade vem acompanhado de muitas incógnitas; o *Vibrio parahaemolyticus* está presente em nosso meio, e em outros locais é apontado como agente causal de infecções humanas.

Recomendamos atenção para esse problema que é de Saúde Pública; a pesquisa do *Vibrio parahaemolyticus* deve ser incluída em casos de toxinfecções alimentares quando do consumo de pescados e em outras síndromes onde não tenham sido evidenciados outros agentes etiológicos. Recomendamos ainda que seu controle seja previsto pela legislação e fiscalização dos produtos de origem marinha.

Métodos profiláticos adequados devem ser incentivados. Esses métodos consistem principalmente no tratamento das ostras, em tanques especiais, com água do mar filtrada, constantemente ozonizada e irradiada com luz ultravioleta de comprimento de onda bactericida, por um espaço de tempo de 18-24 horas; devem ser transportadas em caminhões com vagões refrigerados, a exemplo do que já vem sendo realizado na região de Cananéia, e como foi recomendado por diversos autores^{6, 17, 24}. O conjunto dessas medidas diminui a carga microbiana desses moluscos e não permite a multiplicação posterior das bactérias.

Agradecimentos

Agradecemos a colaboração dos Drs. Morris Fishbein, Barry A. Wentz e Joseph O. Olson Jr. da Food and Drug Administration, Department of Health, Education and Welfare, Estados Unidos da América, que nos auxiliaram na confirmação e caracterização das cepas; ao Dr. Roberto M. Twedt, também da F.D.A., pelos esclarecimentos prestados; ao Dr. Geraldo Henrique Pinto, Diretor da Divisão Especial de Saúde do Vale da Ribeira, S.P.; à Sorecostra S/A, Cananéia, S.P., pelo fornecimento das amostras e esclarecimentos quanto aos métodos de depuração das ostras, e aos funcionários da Seção de Meios de Cultura do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P.

GELLI, D. S.; TACHIBANA, T. & SILVA, T. M. P. — Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters and other sea products from the São Paulo littoral in Brazil. Review and comments on the potencial public health problems. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 9-16, 1975/76.

SUMMARY: Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* was researched in 101 samples of sea products being 12 fishes, 5 shellfishes, 6 shrimps, 70 oysters and 8 samples of sea water. 75 positive samples were found, distributed as follows: 5 fishes, 2 shellfishes, 3 shrimps, 39 oysters and 6 samples of sea water. 40 strains which were submitted to serological analysis by the Food and Drug Administration, U. S. Department of Health, Education and Welfare proved to be non-haemolytic and among them 17 different serological types were encountered.

The results are discussed based on the review of the literature on the dissemination and pathogenicity of this microorganism.

DESCRIPTORS: *Vibrio parahaemolyticus* isolation in oysters and other sea products (São Paulo, Brazil).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARKER JR., W.H. — *Vibrio parahaemolyticus* outbreaks in the United States. *Lancet*, 1 (7857): 551-4, 1974.
2. BARROW, G.I. — Marine micro-organisms and food poisoning. In: HOBBS, B. C. & CHRISTIAN, J.H.B., ed. — *The microbiological safety of food*. London, Academic Press, 1973. p. 190-6.
3. BARROW, G.I. & MILLER, D.C. — *Vibrio parahaemolyticus*: a potential pathogen from marine sources in Britain. *Lancet*, 1 (7748): 485-6, 1972.
4. BOCKEMUL, J.; AMEDOME, A. & TRIEMER, A. — *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis during the El Tor cholera epidemic in Togo (West Africa). *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 24: 101-4, 1975.
5. BOLEN, J. L.; ZAMISKA, S. A. & GREENOUGH III, W.B. — Clinical features in enteritis due to *Vibrio parahaemolyticus*. *Am. J. Med.*, 57: 638-41, 1974.
6. BRADSHAW, J. G.; FRANCIS, D.W. & TWEDT, R.M. — Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in cooked seafood at refrigeration temperatures. *Appl. Microbiol.*, 27: 657-61, 1974.
7. DADISMAN JR., T.A.; NELSON, R; MOLENDA, J.R. & GARBER, H.J. — *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis in Maryland. I. Clinical and epidemiological aspects. *Am. J. Epidemiol.*, 96: 414-26, 1972.
8. DOKI CHUM; JAE KYO CHUNG; SUNG YONG SEOL & RYUNBIN TAK — *Vibrio parahaemolyticus* in the Republic of Korea. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 23: 1125-9, 1974.
9. ESTADOS UNIDOS. Food and Drug Administration — *Isolation and identification of Vibrio parahaemolyticus*. [s.l.] F.D.A., may 5, 1972. [Multiliterado]
10. FISHBEIN, M.; MEHLMAN, I.J. & PITCHER, J. — Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from the processed meat of Chesapeake Bay blue crabs. *Appl. Microbiol.*, 20: 176-8, 1970.
11. FISHBEIN, M. & OLSON JR., J.C. — *Vibrio parahaemolyticus*: a real foodborne disease problem. *FDA Papers*, 5 (7): 16-22, 1971.
12. FISHBEIN, M. & WENTZ, B. — *Vibrio parahaemolyticus* methodology for isolation from seafoods and epidemic specimens. *J. Milk Fd. Technol.*, 36: 118-23, 1973.

GELLI, D.S.; TACHIBANA, T. & SILVA, T.M.P. — Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* em ostras e outros produtos marinhos no litoral de São Paulo, Brasil. Revisão e considerações sobre o risco potencial para a saúde pública. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 9-16, 1975/76.

13. FUJINO, T. apud SAKAZAKI, R. — Recent trends of *Vibrio parahaemolyticus* as a causative agent of food poisoning. In: HOBBS, B.C. & CHRISTIAN, J.H.B., ed. *The microbiological safety of food*. London, Academic Press, 1973. p. 19-30.
14. FUJINO, T. apud TWEDT, R.M. & BROWN, D.F. ³⁴
15. HOFER, E. & SILVA, C.H.D. — Isolamento e identificação de *Vibrio parahaemolyticus* de material de peixe de origem marinha. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 5.º, Rio de Janeiro, 1974. Resumos dos Trabalhos. p. 193.
16. HOOPER, W.K.; BARROW, G.I. & McNAB, D.J.N. — *Vibrio parahaemolyticus* food-poisoning in Britain. *Lancet*, 1 (7866): 1100-2, 1974.
17. HYGIENE du poisson et des fruits de mer. *Chronicle Wild Hith Org.*, 29: 63-9, 1975.
18. JANSSEN, W.A. — Oysters: retention and excretion of three types of human waterborne diseases bacteria. *Health Lab. Sci.*, 11 (1): 20-4, 1974 apud *Abstracts on Hygiene*, 49 (8): 663, 1974. Resumo n.º 2511.
19. KANEKO, T. & COLWELL, R.R. — Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* and related organisms in the Atlantic Ocean off South Carolina and Georgia. *Appl. Microbiol.*, 28: 1009-17, 1974.
20. KOURANY, M.; KINNEY, R.J. & VÁSQUEZ, M.A. — *Vibrio parahaemolyticus* in seawater off the Pacific coast of Panamá. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 23: 714-5, 1974.
21. KOURANY, M. & VÁSQUEZ, M.A. — The first reported case from Panamá of acute gastroenteritis caused by *Vibrio parahaemolyticus*. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 24: 638-40, 1975.
22. LEITÃO, M.F.F. & ARIMA, H.K. — *Vibrio parahaemolyticus* no ambiente marinho do Estado de São Paulo. 1 — Ocorrência na água e avaliação da metodologia e isolamentos. *Col. Inst. Technol. Alimentos*, 6: 149-66, 1975.
23. LISTON, J. & BAROSS, J. — Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in the natural environment. *J. Milk Fd. Technol.*, 36 113-7, 1973.
24. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Comité d'experts de l'OMS/FAO. Hygiène du poisson e des fruits de mer. Genève, 1974. Sér. rapp. techn. n.º 550.
25. PEFFERS, A.S.R.; BAILAY, J.; BARROW, G.I. & HOBBS, B.C. — *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis and international air travel. *Lancet*, 1 (7795): 143-5, 1973.
26. PTHUCHEARY, S.D. — *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis in Malaysia. *Med. J. Malaysia*, 28: 44-6, 1973.
27. RUGAI, E. & ARAUJO, A. — Meio de cultura para identificação presuntiva de bacilos intestinais Gram-negativos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 28: 79-83, 1968.
28. SAKAZAKI, R. — Control of contamination with *Vibrio parahaemolyticus* in seafoods and isolation and identification of the *Vibrio*. In: HOBBS, B.C. & CHRISTIAN, J.H.B., ed. *The microbiological safety of food*. London, Academic Press, 1973. p. 375-85.
29. SAKAZAKI, R. — Recent trends of *Vibrio parahaemolyticus* as a causative agent of food poisoning. In: HOBBS, B.C. & CHRISTIAN, J.H.B., ed. — *The microbiological safety of food*. London, Academic Press, 1973. p. 19-30.
30. SAKAZAKI, R. apud TWEDT, R.M. & BROWN, D.F. ³⁴
31. SAKURAL, J.; MATSUZAKI, A.; TAKEDA, Y. & MIWATANI, T. — Existence of two distinct haemolysins in *Vibrio parahaemolyticus*. *Infect. Immun.*, 9: 777-80, 1974.
32. SANYAL, S.C.; SIL, J. & SAKAZAKI, R. — Laboratory infection by *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Med. Microbiol.*, 6: 121-2, 1973.
33. TWEDT, R.M. & BROWN, D.F. — Studies on the enteropathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* in the ligated rabbit ileum. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON *VIBRIO PARAHAEMOLYTI-CUS*. Tokio, 1973.
34. TWEDT, R.M. & BROWN, D.F. — *Vibrio parahaemolyticus* infection or toxicosis? *J. Milk Fd Technol.*, 36: 129-34, 1973.

Recebido para publicação em 13 de junho de 1975.

TEORES DE COBRE EM CAFÉ TORRADO E MOÍDO E EM CAFÉ BEBIDA *

Walkyria H. LARA **
Myrian de TOLEDO **
Mickiko Y. TAKAHASHI **

RIAL-A/412

LARA, W. H.; TOLEDO, M. & TAKAHASHI, M. Y. — Teores de cobre em café torrado e moído e em café bebida. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 17-22, 1975/76.

RESUMO: Cem amostras de café torrado e moído (pó), de diferentes partes do Brasil, foram analisadas para determinação de cobre pelo método de espectrofotometria de absorção atômica. Foram analisados também os cafés bebida correspondentes.

Os resultados encontrados mostraram um valor médio de 17,26 p.p.m. de cobre para os pós e de 1,19 p.p.m. para os cafés bebida. Como o café bebida foi preparado de modo a representar uma diluição de 1:5 do pó correspondente, os valores encontrados indicam uma extração de 34,49% do cobre existente nos pós.

5% das amostras de pó mostraram um nível abaixo de 10 p.p.m. de cobre. Nestes pós, quase todo o cobre foi extraído quando o café bebida foi obtido.

Não há correlação entre os valores de cobre obtidos no café bebida e os contidos no pó. Quando os cafés bebida foram preparados do mesmo modo (na diluição de 1:5), todos mostraram um nível de cobre de 1,0 p.p.m. \pm 0,26.

DESCRITORES: cobre, determinação em café torrado e moído; cobre, determinação em café bebida; café (torrado e moído), determinação de cobre; café (bebida), determinação de cobre; espectrofotometria de absorção atômica, determinação de cobre em café.

INTRODUÇÃO

Cobre é um constituinte de todos os tecidos vegetais e animais e é essencial ao

crescimento normal e à preservação da saúde. Participa no metabolismo de ferro, na síntese de hemoglobina e está associado à formação de clorofila. Na sua ausência

* Realizado na Seção de Aditivos e Pesticidas Residuais e na Seção de Equipamentos Especializados do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S. P.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

ou deficiência, podem se desenvolver alterações tais como a anemia secundária. Altas concentrações de cobre, entretanto, podem produzir efeitos tóxicos sobre plantas e animais. Quando ingerido em níveis moderados, o cobre não se acumula no organismo humano, sendo eliminado principalmente pelas fezes^{5, 7}.

A necessidade diária de uma pessoa adulta é da ordem de 2 mg de cobre⁴, sendo bastante variadas as fontes na alimentação que podem satisfazê-la (sucos de frutas, açúcares, óleos e gorduras)⁶.

A avaliação toxicológica de contaminantes de alimentos levou a Comissão do Codex Alimentarius a uma definição de "carga máxima diária aceitável", para vários contaminantes metálicos, entre os quais o cobre, representando essa carga o máximo aceitável para ser ingerido pelo homem, diariamente, sem acarretar problemas para a saúde. Para o cobre, esta "carga máxima diária aceitável" é da ordem de 0,5 mg/quilo peso corpóreo³.

O controle de doenças do cafeeiro trouxe paralelamente o uso intensivo e extensivo de fungicidas cúpricos (óxido de cobre, oxiclureto de cobre, hidróxido de cobre e sulfato de cobre) isolados ou associados a outros produtos. Numerosos trabalhos sobre o efeito desses fungicidas foram realizados sob o ponto de vista agrônomo assim como sobre seus efeitos sobre a qualidade dos grãos obtidos².

Para o consumidor de café (bebida), e do ponto de vista de padronização de alimentos, é de importância conhecer o teor de cobre no café usualmente consumido e se há relação entre esse teor e o teor existente no café torrado e moído (pó).

A fim de se conhecerem esses teores, foram analisadas, pelo método de espectrofotometria de absorção atômica para determinação de cobre, cem amostras de café torrado e moído procedentes de vários pontos do país e os cafés bebida correspondentes.

MATERIAL E MÉTODO

Material

Espectrofotômetro Perkin-Elmer, modelo 303, equipado com queimador de três fendas (three slot burner head) para acetileno e ar e registrador Hitachi-Perkin-Elmer, modelo 165.

Condições instrumentais

Comprimento de onda: 324,7 nm

Fenda: 4 (0,7 nm)

Fonte: lâmpada de cátodo oco de cobre

Corrente da lâmpada: 18 mA

Tipo de chama: ar-acetileno (tênue-azul)

Ácido clorídrico p.a

Água desmineralizada e bidestilada

Soluções padrão de cobre:

Soluções padrão contendo 1.000 p.p.m. de cobre *

Solução com 0,5; 1,0; 3,5 e 10,0 p.p.m., obtidas a partir da solução padrão por diluição com água.

Amostras

As amostras empregadas foram as colhidas no comércio e torrefações, pelo Serviço de Fiscalização das Agências do Instituto Brasileiro do Café, em diversos Estados da Federação, e remetidas à Seção do Café, do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, para análise fiscal.

Para obtenção do café bebida correspondente, foram seguidas as normas de diluição 1:5, em que 5 gramas de pó foram tratados com 25 ml de água fervente e filtrados em papel de filtro. A água utilizada foi água desmineralizada e bidestilada e o papel de filtro foi testado para conteúdo de cobre.

Procedimento

a) *Café torrado e moído (pó)*

Pesar 2 g de café numa cápsula de porcelana. Queimar inicialmente com chama

* Hartman-Leddon Co., Philadelphia, Pa., E.U.A.

baixa e depois incinerar na mufla a 500°C. Esfriar, adicionar 1 ml de ácido clorídrico a 20%, v/v, filtrar lavando a cápsula e o papel de filtro com 3 porções de 5 ml de água e completar o volume de 20 ml com água.

Fazer a leitura no espectrofotômetro, utilizando escala 1 e supressão de ruído 1. Usar branco obtido de 1 ml de ácido clorídrico a 20%, completado a 20 ml com água e curva de calibração feita com soluções padrão de cobre.

b) *Café (bebida)*

Pesar 5 g de café num béquer de 100 ml. Colocar 25 ml de água fervendo, agitar ligeiramente com bastão de vidro e em seguida filtrar. Fazer leitura diretamente com o filtrado, usando escala 3 ou 10, com supressão de ruído 2 ou 3, respectivamente. Usar um branco e curva de calibração nas condições acima descritas.

RESULTADOS

Os resultados obtidos figuram na tabela 1:

TABELA 1

Teor de cobre em café torrado e moído (pó) e em café bebida mg/kg (p.p.m.)

(Continua)

AMOSTRA n.º	LOCALIDADE E SIGLA DO ESTADO	PÓ mg/kg	BEBIDA mg/kg
1	Guarapuava — PR	20	1,0
2	Cruzeiro do Oeste — PR	13	1,1
3	Apucarana — PR	18	1,0
4	União da Vitória — PR	18	1,1
5	Curitiba — PR	14	0,8
6	Laranjeiras do Sul — PR	17	1,4
7	Assis Chateaubriand — PR	19	1,3
8	Propriá — SE	15	1,3
9	Rio do Sul — SE	12	1,2
10	Palloca — SE	7	0,8
11	Laguna — SE	14	1,3
12	Santos — SP	16	1,3
13	Santos — SP	9	1,1
14	Santos — SP	22	1,4
15	Santos — SP	16	1,8
16	Peruíbe — SP	16	1,4
17	Itanhaém — SP	15	1,0
18	Itanhaém — SP	14	1,6
19	São Caetano do Sul — SP	15	1,3
20	São Paulo — SP	14	1,2
21	Crissiuma — SP	11	1,2
22	F. Westphalen — SP	16	1,6
23	Erexim (ou Erechim) — RS	16	1,0
24	Getúlio Vargas — RS	10	1,2
25	Cachoeiro do Itapemirim — ES	18	1,0
26	Alegre — ES	13	1,0
27	Viana — ES	17	2,0
28	Videira — SC	20	1,5
29	São José — SC	14	1,1
30	Fortaleza — CE	11	1,3
31	Fortaleza — CE	25	1,1
32	Fortaleza — CE	16	1,8
33	Formiga — MG	20	1,3
34	Itaúna — MG	18	0,9
35	Luz — MG	20	1,3
36	Pouso Alegre — MG	27	1,0
37	Cambuí — MG	29	0,9
38	Guaxupé — MG	24	1,4

(conclusão)

AMOSTRA n.º	LOCALIDADE E SIGLA DO ESTADO	PÓ mg/kg	BEBIDA mg/kg
39	Santa Rita do Sapucaí — MG	23	1,2
40	Passos — MG	23	1,0
41	Cristina — MG	17	0,8
42	Pecuti — MG	18	1,0
43	São Lourenço — MG	15	0,8
44	Caxambu — MG	15	1,0
45	Uberaba — MG	20	0,9
46	Teófilo Otoni — MG	12	0,5
47	Ponte Nova — MG	18	1,0
48	Juiz de Fora — MG	20	1,0
49	Mossoró — RN	22	1,1
50	Parelhas — RN	6	0,9
51	Caicó — RN	18	1,1
52	Cruzeta — RN	14	1,4
53	Patos — PB	18	1,0
54	Itabaiana — PB	22	1,1
55	Guaraira — PB	18	1,6
56	Solânea — PB	12	0,5
57	João Pessoa — PB	12	1,2
58	Souza — PB	20	1,0
59	Castro Alves — BA	6	0,9
60	Valença — BA	18	1,1
61	São Miguel dos Matos — BA	12	1,3
62	Salvador — BA	19	1,1
63	Manaus — AM	14	1,4
64	Manaus — AM	23	1,4
65	Manaus — AM	18	1,4
66	Itacotiara — AM	10	1,4
67	Taquara — RS	21	1,5
68	São Francisco de Paula — RS	22	1,2
69	Bom Jesus — RS	19	1,4
70	Porto Alegre — RS	24	1,4
71	São Borja — RS	30	1,8
72	Lagoa Vermelha — GO	7	1,0
73	Brasília — GO	22	1,2
74	Taquatinga — GO	14	1,0
75	Uriaçu — GO	16	1,5
76	São Manoel — GO	27	1,3
77	Pires do Rio — GO	12	1,2
78	Catalão — GO	14	1,3
79	Ipomés — GO	26	1,3
80	Anápolis — GO	10	1,1
81	Orizona — GO	22	1,7
82	Bela Vista — GO	11	1,5
83	Morrinhos — GO	17	1,0
84	Buriti Alegre — GO	14	1,0
85	São Simão — GO	16	0,9
86	Jussara — GO	27	1,3
87	Itaberaí — GO	20	1,0
88	Formosa — GO	20	1,1
89	Alvorada do Norte — GO	22	1,0
90	Luziânia — GO	20	1,4
91	Itaguaçu — GO	23	0,8
92	Salvador — BA	19	1,1
93	Rio Branco — AC	16	1,3
94	Rio Branco — AC	16	1,0
95	Nova Friburgo — RJ	19	1,1
96	Porciúncula — RJ	19	1,3
97	Anta — RJ	14	1,6
98	Petrópolis — RJ	19	1,3
99	Porto Velho — RJ	19	1,3
100	Maria da Graça — RJ	17	1,0

Os teores de cobre nos pós apresentaram um mínimo de 6 e um máximo de 30 p.p.m., sendo apenas 5% das amostras com valores abaixo de 10 p.p.m. Os teores de cobre nas bebidas correspondentes variaram de 0,9 a 1,2 p.p.m.

A tabela 2 reúne as médias e desvios padrão dos valores encontrados e os resultados, quando consideradas isoladamente as amostras com teores abaixo e acima de 10 p.p.m.

TABELA 2

Média e desvios padrão dos valores da tabela 1

Café torrado e moído (pó)		
N.º amostras	Média (mg/kg)	Desvio padrão
100	17,26	4,89
95	17,80	0,26
5	7,00	1,10

Café bebida		
N.º amostras	Média (mg/kg)	Desvio padrão
100	1,19	0,26
95	1,20	0,26
5	0,90	0,10

DISCUSSÃO

Uma correlação direta entre o teor de cobre no pó e no café bebida não é de se esperar, pois o café bebida representa uma extração parcial e nem todo o cobre existente nos pós está em forma solúvel.

Além disto, qualquer estudo comparativo deve levar em conta os fatores que interferem na extração ao se fazer o café bebida. O café bebida pode ser obtido por percolação ou por infusão, mas em ambos os processos devem ser levados em conta: o grau de torrefação, o grau de moagem e o tempo de contacto com a água.

Não há uma padronização de torrefação e moagem nos cafés torrados e moídos postos à venda, em nosso país. As amostras analisadas representam uma amostragem ao acaso em relação a essas diferenças.

Os resultados obtidos, entretanto, mostram que os teores de cobre nos cafés bebida estão todos muito próximos, mesmo quando provindos de pós com teores bem variados.

Assim, se considerarmos as amostras de pó, com teores acima de 10 p.p.m. de cobre, e os cafés bebida correspondentes, estes mostram uma extração do cobre existente no pó da ordem de 34,49%. Nos casos de cafés torrados e moídos com teores de cobre abaixo de 10 p.p.m., esse cálculo revela uma extração da ordem de 64,38%, sendo sempre o teor de cobre no café bebida da ordem de 1 p.p.m.

Podemos concluir que, independentemente do teor de cobre nos cafés torrados e moídos, e de outros fatores, desde que o processo de obtenção do café bebida seja na diluição de 1:5 e por percolação, o teor de cobre é da ordem de $1,0 \pm 0,26$ p.p.m.

Com este valor podemos calcular que uma pessoa adulta, pesando 70 quilos, ao tomar meio litro de café por dia, estará ingerindo 0,5 mg de cobre, o que representa apenas 1,6% do valor da carga máxima diária aceitável.

Na atual legislação brasileira, não há um valor específico para o teor de cobre em café bebida, mas sim para alimentos em geral, da ordem de 30 p.p.m. para alimentos sólidos e de 5 p.p.m. para alimentos líquidos¹. Mesmo os valores mais altos encontrados neste trabalho estão perfeitamente dentro destas especificações.

Agradecimentos

Agradecemos ao Dr. Fernando C. Lopes, químico do Instituto Brasileiro do Café, São Paulo, e da Seção de Café do Instituto Adolfo Lutz pelo fornecimento das amostras e sugestões apresentadas.

RIAL-A/412

LARA, W. H.; TOLEDO, M. & TAKAHASHI, M. Y. — Copper contents in roasted and ground coffee and in coffee drink. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 17-22, 1975/76.

SUMMARY: One hundred samples of roasted and ground coffee from different parts of Brazil were analysed to determine their copper contents by the atomic absorption spectrometric method. Coffee drinks obtained from the samples were also analysed.

The results indicated an average copper contents of 17.26 p.p.m. for the coffee powder samples and 1.19 p.p.m. for the coffee drinks. Since the coffee drinks were prepared at 1:5 dilution of the corresponding sample, those results indicate that 34.49% of the copper in the samples was extracted during the drink preparation.

In 5% of the samples copper contents was below 10 p.p.m. Nearly all the copper in these samples was extracted when the coffee drinks were prepared.

There was no relation between the copper contents in a sample and in the drink prepared from it. When obtained by 1:5 dilution, the copper contents of the drink was of 1.0 p.p.m. \pm 0.26.

DESCRIPTORS: copper in coffee (roasted and ground), determination; copper in coffee (drink), determination; coffee (roasted and ground), copper determination; coffee (drink), copper determination; atomic absorption spectrometry, in determination of copper in coffee.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Leis, decretos etc. — Decreto-lei n.º 55.871 de 28 de março de 1965. Modifica o Decreto n.º 50.040 de 24 de janeiro de 1961, referente a normas regulamentadoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto n.º 691, de 13 de março de 1962. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 9 abr., 1965.
2. CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE PESQUISAS CAFEÉIRAS, 2.º, Poços de Caldas, 1974. Resumos dos trabalhos apresentados. Rio de Janeiro, Instituto Brasileiro do Café, [1975].
3. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. *List of maximum levels recommended for contaminants by the joint FAO/WHO Codex Alimentarius Commission*. First series. Roma, 1974. [CAC/FAL 2-1973]
4. MARTINDALE, W.H. — *Extra pharmacopoeia*. 24.ª ed. London, Pharmaceutical press, 1958. p. 473.
5. MONIER-WILLIAMS, G.W. — *Trace elements in food*. London, Chapman & Hall, 1949. p. 6.
6. *Ibid.* p. 30.
7. PIKE, E.R.; GRAHAM, L.C. & FOGDEN, M.W. — An appraisal of toxic metal residue in the soils of a disused sewage farm. *J. Ass. publ. Anal.*, 13: 1-42, 1975.

Recebido para publicação em 26 de junho de 1975.

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO POLAROGRAFICO DE NAFTILAZODERIVADOS *

Celso F. BITTENCOURT **
Célia Wisniewski KAMINSKI **

RIAL-A/413

BITTENCOURT, C. F. & KAMINSKI, C. W. — Contribuição ao estudo polarográfico de naftilazoderivados. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 23-29, 1975-76.

RESUMO: A análise polarográfica de naftilazoderivados de sulfamidas com núcleo pirimidínico é descrita.

DESCRIPTORIOS: análise polarográfica, 4-[p-(4,6-dimetil-2-pirimidil-sulfamil) fenilazo]-1-naftilamina; 4-p-(5-metoxi-2-pirimidilsulfamil) fenilazo]-1-naftilamina; 4-[p-(2,6-dimetoxi-4-pirimidilsulfamil)fenilazo]-1-naftilamina; 4-[p-2-pirimidilsulfamil)fenilazo]-1-naftilamina.

INTRODUÇÃO

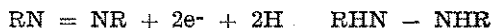
Os naftilazoderivados tiveram sua preconização como esquistossomicidas através de ESLAGER *et alii* 3, 4, 5, 6, 7. KOROLKOVAS 12, 13, 14, 15 sintetizou derivados de sulfas, entre eles: 4-[p-(4,6-dimetil-2-pirimidil-sulfamil)fenilazo]-1-naftilamina (I), P.M. 432, 5077; 4-[p-(5-metoxi-2-pirimidilsulfamil) fenilazo]-1-naftilamina (II), P.M. 434, 480; 4-[p-(2,6-dimetoxi-4-pirimidilsulfamil) fenilazo]-1-naftilamina (III), P.M. 464, 5046 e 4-[p-(2-pirimidilsulfamil) fenilazo]-1-naftilamina (IV), P.M. 404, 442.

Estudo espectrofotométrico e provas qualitativas para estes compostos têm sido realizados^{1,2}, não sendo, porém, constatado o emprego da polarografia nos mesmos.

Visa-se, com esta publicação, determinar os potenciais de meia onda e a curva padrão dos referidos naftilazoderivados de sulfas com núcleo pirimidínico.

LITERATURA

Azobenzeno e seus derivados podem ser reduzidos em soluções neutras, ácidas e alcalinas. Na reação de redução participam dois elétrons e dois hidrogênios, sendo o produto da reação dos compostos um hidrazo¹⁸:



Como eletrólito suporte, tem sido empregado na redução de derivados azóicos, principalmente, o tampão de Britton-Robinson (BR)¹⁰, pH 7,08 e o tampão de acetato 0,1 N em álcool a 75%¹⁶.

* Trabalho realizado no Departamento de Biofarmácia da Universidade Federal de Santa Maria, RS.
** Do Departamento de Biofarmácia da Universidade Federal de Santa Maria, RS.

MATERIAL E MÉTODOS

Determinação da curva de calibração

Para a determinação da curva de calibração e potencial de meia onda dos compostos em análise, polarografar contra ele-

trodo* de calomelano saturado (ECS), sob as condições indicadas na tabela abaixo.

Determinação de potencial de meia onda

Para a determinação de potencial de meia onda (E 1/2), aplicar aos polarogramas obtidos o processo gráfico^{8,9,11,17}.

Condições para a execução da curva de calibração

COMPOSTO	CONCENTRAÇÃO	MEIO	VOLTAGEM DE PARTIDA	FAIXA	SENSIBILIDADE
I	0,46 x 10 ⁻⁴ M	10 ml DMF*	- 0,5 V	2,0 V	3 x 10 ⁻⁷ A/mm
	0,92 x 10 ⁻⁴ M	"	"	"	"
	1,38 x 10 ⁻³ M	"	"	"	"
	1,85 x 10 ⁻³ M	"	"	"	"
Branco	—	"	"	"	"
II	1,15 x 10 ⁻³ M	10 ml DMF	- 0,25 V	2,0 V	12 x 10 ⁻⁸ A/mm
	2,30 x 10 ⁻³ M	"	"	"	"
	3,45 x 10 ⁻³ M	"	"	"	"
	4,60 x 10 ⁻³ M	"	"	"	"
Branco	—	"	"	"	"
III	0,86 x 10 ⁻⁴ M	10 ml DMF +0,5 ml BR**	0,0 V	2,0 V	2 x 10 ⁻⁷ A/mm
	1,29 x 10 ⁻³ M	"	"	"	"
	1,72 x 10 ⁻³ M	"	"	"	"
	2,15 x 10 ⁻³ M	"	"	"	"
Branco	—	"	"	"	"
IV	1,24 x 10 ⁻³ M	10 ml DMF	- 0,25 V	2,0 V	12 x 10 ⁻⁸ A/mm
	2,48 x 10 ⁻³ M	"	"	"	"
	3,72 x 10 ⁻³ M	"	"	"	"
	4,96 x 10 ⁻³ M	"	"	"	"
Branco	—	"	"	"	"

* Dimetil-formamida

** Britton-Robinson

Nota — Para todas as soluções

Atenuação: 3

Tempo de gotejamento: 3 segundos

* Utilizou-se polarógrafo OH-102 — RADELKIS.

RESULTADOS

Curvas de calibração

As curvas obtidas para os compostos I e III encontram-se expostas na figura 1, e as curvas obtidas para os compos-

tos II e IV encontram-se expostas na figura 2.

Potencial de meia onda

Foram encontrados, nas condições de ensaio, os potenciais de meia onda dos compostos I, II, III e IV indicados na figura 3.

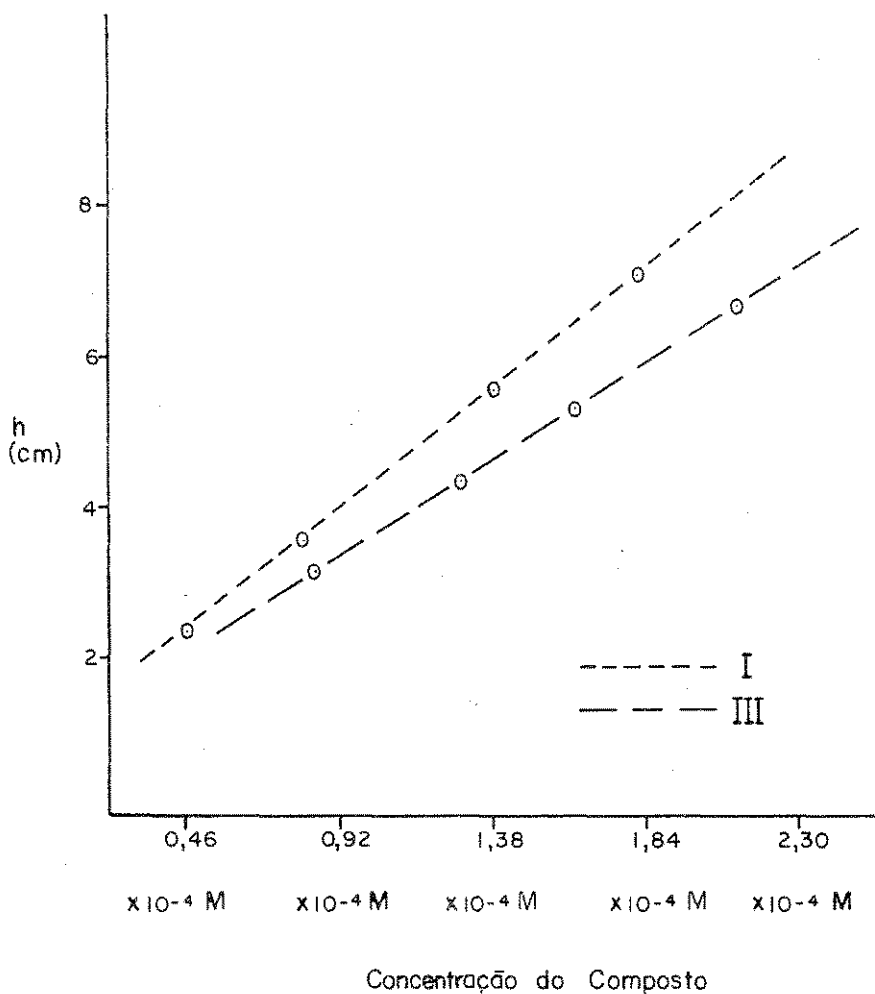


Fig. 1 — Curva de calibração para os compostos I e III.

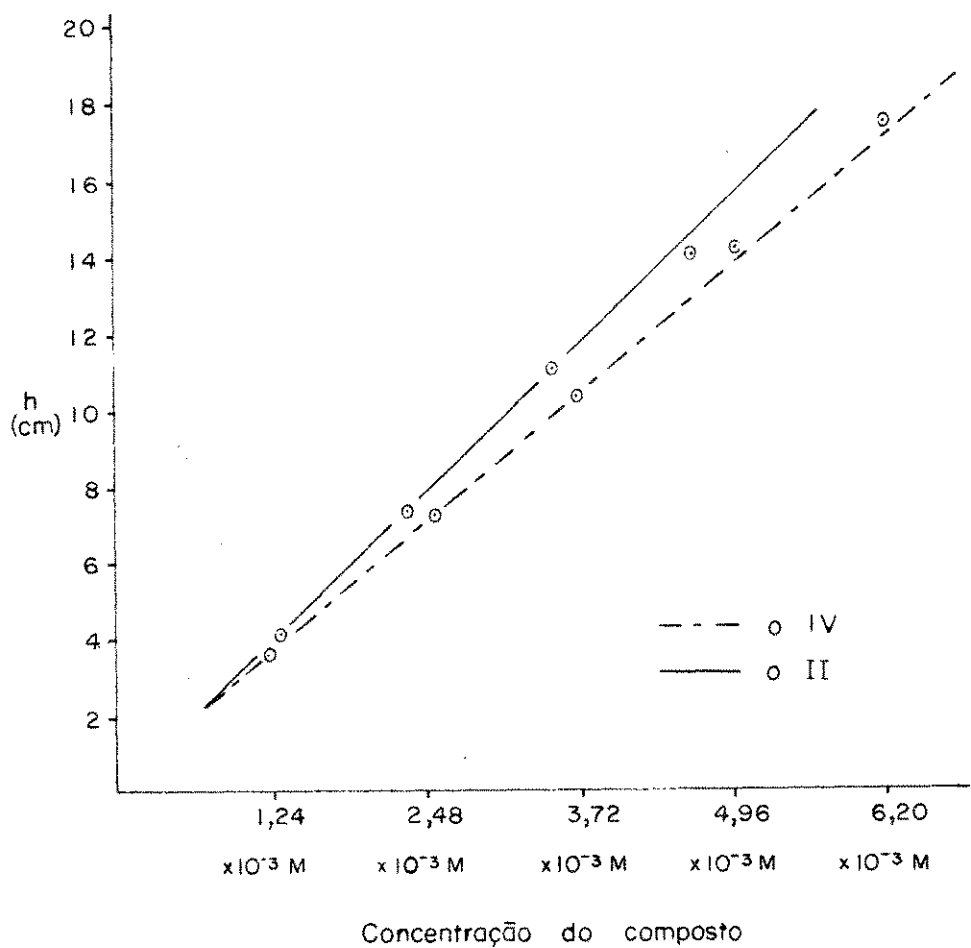
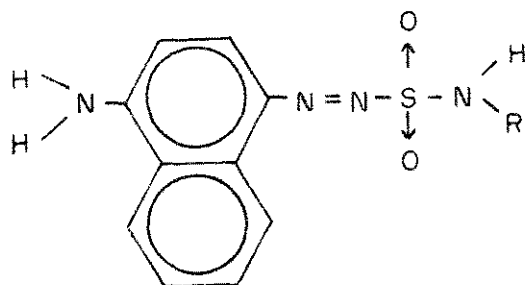


Fig. 2 — Curva de calibração para os compostos II e IV.

Composto



Composto	R	E 1/2
I		- 0,95V
II		- 0,65V
III		- 0,53V
IV		- 0,67V

Fig. 3 — Estrutura dos naftilazoderivados analisados e seus potenciais de meia onda.

DISCUSSÃO

Os produtos submetidos à análise polarográfica apresentam, unicamente, solubilidade em Dimetilformamida, entre os solventes usuais em laboratório. Por esta razão, apesar de experimentadas as diversas soluções indicadas pela literatura^{10, 16}, apenas foram encontrados resultados com as descritas na presente publicação.

CONCLUSÃO

No presente trabalho determinaram-se as curvas padrão e os potenciais de meia

onda dos compostos 4-[p-(4,6-dimetil-2-pirimidilsulfamilo)fenilazo]-1-naftilamina; 4-[p-(5-metoxi-2-pirimidilsulfamilo)fenilazo]-1-naftilamina; 4-[p-(2,6-dimetoxi-4-pirimidilsulfamilo)fenilazo]-1-naftilamina; 4-[p-(2-pirimidilsulfamilo)fenilazo]-1-naftilamina, tendo sido encontrados, respectivamente, $\sim 0,95$ V, $\sim 0,65$ V, $\sim 0,53$ V e $\sim 0,67$ V.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Andrejus Korolkovas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo pelas matérias primas fornecidas.

RIAL-A/413

BITTENCOURT, C. F. & KAMINSKI, C. W. — Polarographic analysis of naphthylazoderivates. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 23-29, 1975/76.

SUMMARY: The polarographic analysis of naphthylazoderivates from sulfonamides containing pyrimidine nucleus were described.

DESCRIPTORS: polarographic analysis, 4-[p-(4,6-dimethyl-2-pyrimidylsulphamilo)phenylazo]-1-naphthylamine; 4-[p-(5-methoxy-2-pyrimidylsulphamilo)phenylazo]-1-naphthylamine; 4-[p-(2,6-dimethoxy-4-pyrimidylsulphamilo)phenylazo]-1-naphthylamine; 4-[p-2-pyrimidylsulphamilo)phenylazo]-1-naphthylamine.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BERTOLDO, C.; BITTENCOURT, C.F. & LEIPNITZ, L. — 4-[p-(4,6-dimetil-2-piramidilsulfamilo)fenilazo]-1-naftilamina e 4-[p-(5-metoxi-2-pirimidilsulfamilo)fenilazo]-1-naftilamina: análise espectrofotométrica. *Rev. Cent. Cienc. biom. Univ. Fed. S. Maria*, 1: 101-8, 1972.
2. BITTENCOURT, C.F.; BERTOLDO, C.; BORTOLUZZI, A.V.; DALLA PORTA, B.T.B. & MACHADO, G.M. — 4-[p-(2-pirimidilsulfamilo)fenilazo]-1-naftilamina: análise espectrofotométrica. *Rev. Fac. Farm. Bioq. Univ. Fed. S. Maria*, 13: 29-44, 1967.
3. ELSLAGER, E.F. *et alii* — Effects of Tris (p-aminophenyl)-carbonium salts and related compounds on experimental schistosomiasis and paragonimiasis. *Nature* (London), 190: 628-9, 1961.
4. ELSLAGER, E.F.; CAPPS, D.B.; WERBEL, L.M.; WORTH, D.F.; MEISENHOLDER, H.N. & THOMPSON, P.E. — [4-(Aminoalkylamino)-1-naphthylazo] heterocyclic compounds, a novel class of schistosomicides. *J. med. Chem.*, 6: 217-9, 1963.
5. ELSLAGER, E.F.; CAPPS, D.B.; KURTZ, D.H.; WERBEL, L.M. & WORTH, D.F. Synthetic schistosomicides. IV. 5-[4-(2-Diethylamino-ethylamino)-1-naphthylazo] uracil and related [4-(aminoalkylamino)-1-naphthylazo] heterocyclic compounds. *J. med. Chem.*, 6: 646-53, 1963.
6. ELSLAGER, E.F. & WORTH, D.F. — Synthetic schistosomicides. III. 5-(4-amino-1-naphthylazo) uracil and related heterocyclic azo compounds. *J. med. Chem.*, 6: 444-9, 1963.
7. ELSLAGER, E.F. & CAPPS, D.B. — Synthetic schistosomicides. VII. 5-azo-6-alkoxy-3-(aminoalkylamino) quinolines. *J. med. Chem.*, 7: 663-4, 1964.

8. GIOLITO, I. — *Métodos eletrométricos e eletroanalíticos de análise química*. São Paulo, Grupo de Coordenação para o Aperfeiçoamento Tecnológico, 1969. p. 262.
9. HEYROVSKY, J. — *Polarographisches praktikum*. 2.ed. Berlin, Springer, 1960. p. 42.
10. HEYROVSKY, J. & ZUMAN, P. — *Einführung in die praktische polarographie*. Berlin, VEB Verlag Technik, 1959. p. 175.
11. HUERTAS, V.A. — *Polarografía*. Madrid, Alhambra, 1971. p. 94.
12. KOROLKOVAS, A. — Bioquímica e quimioterapia da esquistossomose. *Rev. Fac. Farm. S. Paulo*, 5: 5-48, 1967.
13. ———— Novos naftilazoderivados com atividade quimioterápica. *Rev. Fac. Farm. Bioquím. S. Paulo*, 6: 115-45, 1968.
14. ———— Síntese de novos naftilazoderivados de sulfas com núcleo pirimídico. *Rev. Fac. Farm. Bioquím. S. Paulo*, 6: 147-52, 1968.
15. ———— Síntese de novos naftilazoderivados com atividade quimioterápica. *Rev. Fac. Farm. Bioquím. S. Paulo*, 6: 153-61, 1968.
16. KRJUKOWA, T.A.; SINJAKOWA, S.I. & AREFJEWA, T.W. — *Polarographische analyse*. Leipzig, VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, 1964. p. 480.
17. LIST, P.H. & HORHAMMER, L. — *Hager Handbuch der Pharmazeutischen Praxis*. Berlin, Springer, 1967. v. 1, p. 370.
18. TACHI, J. apud KRJUKOWA, T.A.; SINJAKOWA, S.I. & AREFJEWA, T.W. 16. p. 481.

Recebido para publicação em 12 de julho de 1975.

TESTE PARA SUBSTÂNCIAS DEPRESSORAS EM ANTIBIÓTICOS DE USO HUMANO E VETERINÁRIO *

Serjio L. DALMORA **
Celso F. BITTENCOURT **

RIAL-A/414

DALMORA, S.L. & BITTENCOURT, C.F. — Teste para substâncias depressoras em antibióticos de uso humano e veterinário. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 31-34, 1975/76.

RESUMO: Foi aplicado o teste para substâncias depressoras em antibióticos de uso humano e veterinário, encontrados no comércio, contendo cloranfenicol, cloranfenicol-tetraciclina, e tetraciclina.

DESCRITORES: substâncias depressoras em produtos farmacêuticos contendo antibióticos.

I N T R O D U Ç Ã O

Os produtos injetáveis, contendo substâncias antibióticas para uso humano e veterinário, não devem conter substâncias que venham ocasionar queda de pressão sanguínea.

A maioria das Farmacopéias, Formulários e Códigos utiliza-se do "Teste de Histamina" para determinar a presença destas substâncias 1, 2, 6, 7, 8.

O objetivo do presente trabalho foi verificar a presença de substâncias depressoras, principalmente em produtos de uso veterinário, colaborando, desta maneira, no controle dos mesmos.

Em conformidade com o proposto, analisamos dois produtos comerciais des-

tinados a uso humano contendo, ambos, cloranfenicol (amostras I e II) e três produtos para uso veterinário, contendo, respectivamente: cloranfenicol (amostra V), cloranfenicol e tetraciclina (amostra III) e tetraciclina (amostra IV).

MATERIAL E MÉTODOS

Reagentes

- a) Solução de dicloridrato de histamina U.S.P., em solução fisiológica estéril, de modo a conter o equivalente a 1,0 mg de histamina base por ml (Standard). Guardar em ampolas fechadas, sob refrigeração, até a utilização.
- b) Diluir 0,5 ml de Standard a 50 ml, com solução fisiológica estéril, para obter

* Realizado no Departamento de Biofarmácia da Universidade Federal de Santa Maria, RS.

** Do Departamento de Biofarmácia da Universidade Federal de Santa Maria.

solução contendo 10 μg de histamina base por ml (Stock). Esta solução pode ser conservada, sob refrigeração, até por 1 mês.

- e) Solução teste: 1,0 μ de histamina base por ml. Preparar quando da utilização.
- d) Solução manométrica: citrato de sódio a 7,0%.
- e) Solução anticoagulante: heparina sódica contendo 1.000 U.I. de heparina por mililitro.
- f) Solução anestésica: pentobarbital sódico, 30 miligramas por mililitro. Usar 1,2 ml por kg de peso.
- g) Produto comercial indicado para uso humano (I): frasco ampola contendo 0,345 g de sal sódico de succinato de cloranfenicol (equivalente a 0,250 g de cloranfenicol levógiro).
- h) Produto comercial indicado para uso humano (II): frasco ampola contendo D(-)-treo-cloranfenicol (sob forma de hemissuccinato liofilizado), 1 g.
- i) Produto comercial indicado para uso veterinário (III): frasco ampola contendo sulfato neutro de morfolino acetato de cloranfenicol 0,463 g (correspondente a 0,300 g de cloranfenicol levógiro sintético) - cloridrato de tetraciclina 0,100 g — ácido ascórbico 0,300 g - polivinilpirrolidona 0,2 g.
- j) Produto comercial indicado para uso veterinário (IV): frasco ampola contendo cloridrato de tetraciclina 0,500 g e Vitamina C 0,300 g.
- l) Produto comercial indicado para uso veterinário (V): frasco ampola contendo cloranfenicol levógiro 3,0 g, Vitamina B₁ 0,10 g, Vitamina B₆ 0,01 g, Vitamina B₂ 0,01 g, Vitamina B₁₂ 0,10 mg, Vitamina K 0,01 g, Nicotinamida 0,5 g e Pantotenato de cálcio 0,02 g. Veículo q.s.p. 100 ml.

Procedimento

Utilizar gatos adultos, com peso não inferior a 2,5 quilogramas. Empregar machos ou fêmeas não prenhes.

Anestesiá-lo previamente pesado, através de injeção intraperitoneal. Não deve ser afetado o nível ou a estabilidade da pressão sanguínea. Cirurgicamente expor a veia femoral para administrar as soluções. Através de dissecação, separar completamente a artéria carótida das estruturas que a cercam, inclusive o nervo vago. Canular para medida direta de pressão sanguínea.

Através do quimógrafo, inspecionar o registro da amplitude e da estabilidade da pressão.

Determinar a sensibilidade do animal injetando solução contendo o equivalente a 1,0 micrograma de histamina base por mililitro.

Injetar doses de 0,05, 0,10 e 0,15 microgramas de histamina base por quilograma de peso corporal do animal, em intervalos de tempo não inferiores a 5 minutos, entre cada dose (curva dose-resposta). Determinar por repetição, a variação na resposta depressora para uma mesma dose, através de 3 administrações na concentração de 0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Somente poderão ser utilizados animais cujas respostas para esta dose não forem inferiores a uma queda de pressão de 20 mm de mercúrio.

Dissolver os produtos em solução fisiológica, de modo a serem obtidas concentrações de 5,0 mg de cloranfenicol e de tetraciclina por milímetro. Injetar uma série de 4 doses, no volume de 0,6 ml por quilograma de peso, sob as mesmas condições em que foi realizada a Curva Dose-Resposta. Alternar as séries de amostras com a aplicação da dose de 0,1 μg de histamina base por kg de peso. Após cada administração, introduzir na cânula 0,2 ml de solução salina estéril para remover resíduos.

A média da resposta depressora, dos produtos sob exame, não deve ser maior do que a obtida com a dose equivalente a 0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de histamina base 1, 2, 6, 7, 8.

RESULTADOS

Os resultados indicados no gráfico abaixo representam a média de 5 determinações:

DISCUSSÃO

O método preconizado pela Farmacopéia Brasileira³ para verificação biológica da atividade vasopressora difere dos métodos empregados pela maioria das Farmacopéias, Códigos e Formulários 1, 2, 6, 7, 8. Utilizamos a metodologia proposta pelas obras internacionais, tendo em vista a geral concordância destas, e por aceitarmos ser a de maior atualidade. Dado a este fato,

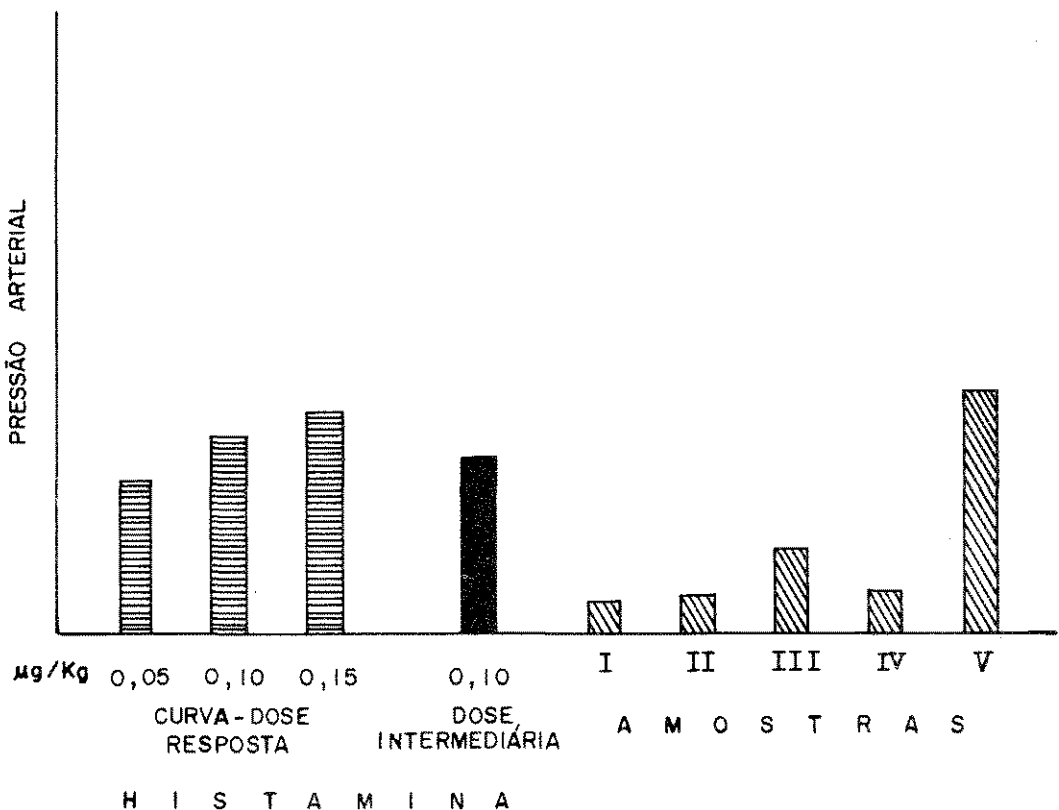


Gráfico demonstrativo dos resultados

o Code of Federal Regulations, Food and Drugs, foi basicamente seguido.

Em nosso país a legislação sobre o controle de qualidade dos produtos veterinários é bastante reduzida⁵. O controle destes produtos fica, praticamente, sujeito à dedicação dos profissionais da Divisão de Defesa Sanitária Animal do Ministério da Agricultura, conforme deduzimos de informações obtidas de Moreira*.

CONCLUSÕES

No presente trabalho foi aplicado o teste para substâncias depressoras nos compostos cloranfenicol (amostras I, II), cloranfenicol-tetraciclina (amostra III), tetraciclina (amostra IV) e cloranfenicol (amostra V), tendo sido verificada queda de pressão maior do que ocasionada pela dose de 0,1 μ g/kg na amostra de número V, o que vem demonstrar a presença de histamino-similares no produto.

RIAL-A/414

DALMORA, S.L. & BITTENCOURT, C.F. — Test for depressing substances in antibiotics of human and veterinarian use. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 31-34, 1975/76.

SUMMARY: A test for depressing substances was applied on antibiotics containing chloramphenicol, chloramphenicol-tetracycline and tetracycline which are available in the medicine market for human and veterinarian use.

DESCRIPTORS: depressing substances in pharmaceuticals with antibiotics.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CODE of Federal Regulations. Food and Drugs. Parts 141 to 169. Washington, D.C., Govn. print. of., 1973. p. 13.
2. DEUTCHES Arzneibuch. 7.ausg. Stutgard, Deutcher Apotheker Verlag, 1968. p. 48.
3. FARMACOPEIA dos Estados Unidos do Brasil. 2.^a ed. São Paulo, Siqueira, 1959. p. 1026.
4. FARMACOPEIA Ufficiale della Repubblica Italiana. 7.^a ed. Roma, Inst. Poligr. Dello Stato, 1965.
5. REGULAMENTO de Fiscalização de produtos de uso veterinário e dos estabelecimentos que os fabricam. 2.^a ed. Brasília, Guttemberg, 1973. p. 24.
6. NATIONAL formulary. 13th ed. Easton, Pa., Mack printing, 1970. p. 801.
7. PHARMACOPEIA of the United States of America. 17th ed. rev. [Easton, Pa, Mack printing] c1965. p. 117.
8. PHARMACOPEIA of the United States of America. 18th ed. rev. [Easton, Pa., Mack printing] c1970. p. 112.

Recebido para publicação em 12 de julho de 1975.

* Informação pessoal de G.J. Moreira, Chefe do Serviço de Veterinária da Divisão de Defesa Sanitária Animal, Ministério da Agricultura, Brasília, Brasil.

DOENÇA DE FOX-FORDYCE (MILIARIA APOCRINA) DAS REGIÕES AXILARES: DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO E HISTOQUÍMICA *

Evandro Pimenta de CAMPOS **
Adriana Manginelli MASSIGNANI **
Flávio Rosa SILVA ***

RIAL-A/415

CAMPOS, E. P.; MASSIGNANI, A. M. & SILVA, F. R. — Doença de Fox-Fordyce (miliaria apocrina) das regiões axilares: diagnóstico histopatológico e histoquímica. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 35-39, 1975/76.

RESUMO: Os autores apresentaram um caso, cujo diagnóstico foi feito pelo exame histopatológico, em paciente do sexo feminino, adulto, de cor branca, queixa antiga de prurido intenso nas regiões axilares, que se fistulizaram posteriormente. Para esclarecimento foi retirada grande extensão da lesão da axila esquerda. O quadro histopatológico mostrou lesões características da doença de Fox-Fordyce, constituídas por hiperqueratose, tamponamento dos ductos excretores das glândulas, acantose, dilatação dos ductos e dos corpos das glândulas apócrinas, e infiltrado inflamatório crônico perianexial. O estudo histoquímico foi feito com P A S e Azul de Alcian, constando positivas as reações para mucopolissacarídeos (P A S) e fracamente positivas para mucopolissacarídeos ácidos (Alcian-blue), no material contido nos ductos e glândulas dilatadas. O teste de saliva para glicogênio não alterou os resultados histoquímicos.

DESCRIPTORIOS: doença de Fox-Fordyce nas axilas, diagnóstico histopatológico e histoquímica; miliaria apocrina.

I N T R O D U Ç Ã O

A doença de Fox-Fordyce é uma afecção rara e os casos publicados são isolados, não havendo um autor com uma série própria apreciável de casos. Os textos e tratados de dermatologia têm reunido as publicações de diversos autores.

A doença tem uma evolução crônica, aparece nas regiões onde estão localizadas as glândulas apócrinas, isto é, nas regiões axilares, pubiana, lábios, perineo, regiões mamilares, região umbelical, região pré-esternal e na parte média superior das coxas; há raças onde essas glândulas são mais desenvolvidas, como na raça negra e judai-

* Trabalho da Divisão de Patologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Do Parque da Aeronáutica de São Paulo (Campo de Marte), S.P.

ca. De causa desconhecida e tratamentos ineficientes, a doença pode ser curada pela cirurgia que retira a lesão afetada; é caracterizada pelo aparecimento de pápulas salientes de coloração rósea escura, firmes, apresentando um ponto escuro central localizado em volta dos folículos; há intenso prurido no local das lesões.

Fox e Fordyce em 1902, segundo MONTGOMERY³, descreveram os dois primeiros casos da doença com localização nas regiões axilares, nas quais havia pápulas intensamente pruriginosas que descreveram como dilatações e obstruções dos poros das glândulas por rolha córnea. Somente em 1957 SHERLLEY & LEVY⁶ relacionaram a doença com as glândulas apócrinas.

O prurido se faz sentir mais à noite, apresentando-se a lesão com os característicos sinais de coçagem. Não há liquenização das lesões, porém aparece frequentemente hiperpigmentação. Sua maior prevalência é nas mulheres adultas, em cerca de 90% dos casos publicados; as lesões se apresentam com localizações simétricas, múltiplas ou isoladas; manifestam-se sob forma de pápulas perifoliculares apagadas, arredondadas, com um ponto escuro central. A retenção de suor nos ductos dilatados das glândulas dá um aspecto característico face ao qual se propôs a denominação de miliaria apocrina para a doença. Entre nós, Curban e Elegalde apresentam 2 casos, um de localização axilar e outro, pubiana, ambos com comprovação histopatológica¹.

Atualmente o número de casos publicados vai pouco acima de 300.

MATERIAL E MÉTODOS

Nosso material de pesquisa é constituído por fragmentos obtidos de peça cirúrgica monobloco, incluindo caminho fistuloso, retirada da região axilar esquerda, de uma paciente do sexo feminino, G.M. de 36 anos, de cor branca, registro IAL. C-23.008. Os fragmentos obtidos foram submetidos aos métodos rotineiros de colorações pela hematoxilina-eosina para determinação do quadro histopatológico. As colorações his-

toquímicas para identificação de mucopolissacarídeos foram feitas pelo P A S, sendo utilizada para preparação do reativo de Schiff a técnica de Tomasi, 1936, conforme orientação de PEARSE⁴. As colorações histoquímicas, para identificação de mucopolissacarídeos ácidos foram feitas pelo Azul de Alcian (Alcian-blue), segundo a técnica indicada também por PEARSE⁵.

RESULTADOS E CONCLUSÕES

Pelas colorações pela hematoxilina-eosina, o quadro histopatológico demonstrou o seguinte: segmento de pele apresentando hiperqueratose e um caminho fistuloso irregular, revestido por epiderme, cheia à luz em toda sua extensão, de escamas córneas. Em volta desta formação, há um processo inflamatório crônico linfoplasmocitário, fibrose da derme e focos de piócitos com áreas de hemorragias antigas.

Notam-se várias rolhas córneas obstruindo ductos de excreção e, na epiderme, pode-se ver segmento de pelo envolvido por manguito córneo. Na epiderme, algumas glândulas sudoríparas bem conservadas; notam-se ductos e corpos glandulares bastante dilatados contendo material amorfo granuloso e eosinófilo em seu interior, com epitélio alto, de grande número de dilatações císticas com delgada parede e epitélio único e achatado, atrofiado; muitos cistos, com a parede rompida, intercomunicando-se e contendo o mesmo material.

A presença de microabcessos localizados junto ao trajeto fistuloso poderia explicar, ao se abrir em sua luz, a eliminação de exsudato; a biópsia, e análise pelo patologista permitiram o diagnóstico através do quadro histopatológico e pesquisas histoquímicas, caracterizando a doença de Fox-Fordyce pela hiperqueratose, acantose, presença de rolha córnea na luz dos ductos excretórios, evidente dilatação dos ductos sudoríparos e dos corpos glandulares, e presença ainda de grande número de dilatações císticas, contendo, em sua luz, uma substância com reação positiva para mucopolissacarídeos.

Em nosso caso não encontramos células gigantes, como citado por GRAHAM *et alii*² (fig. 1 e 2).

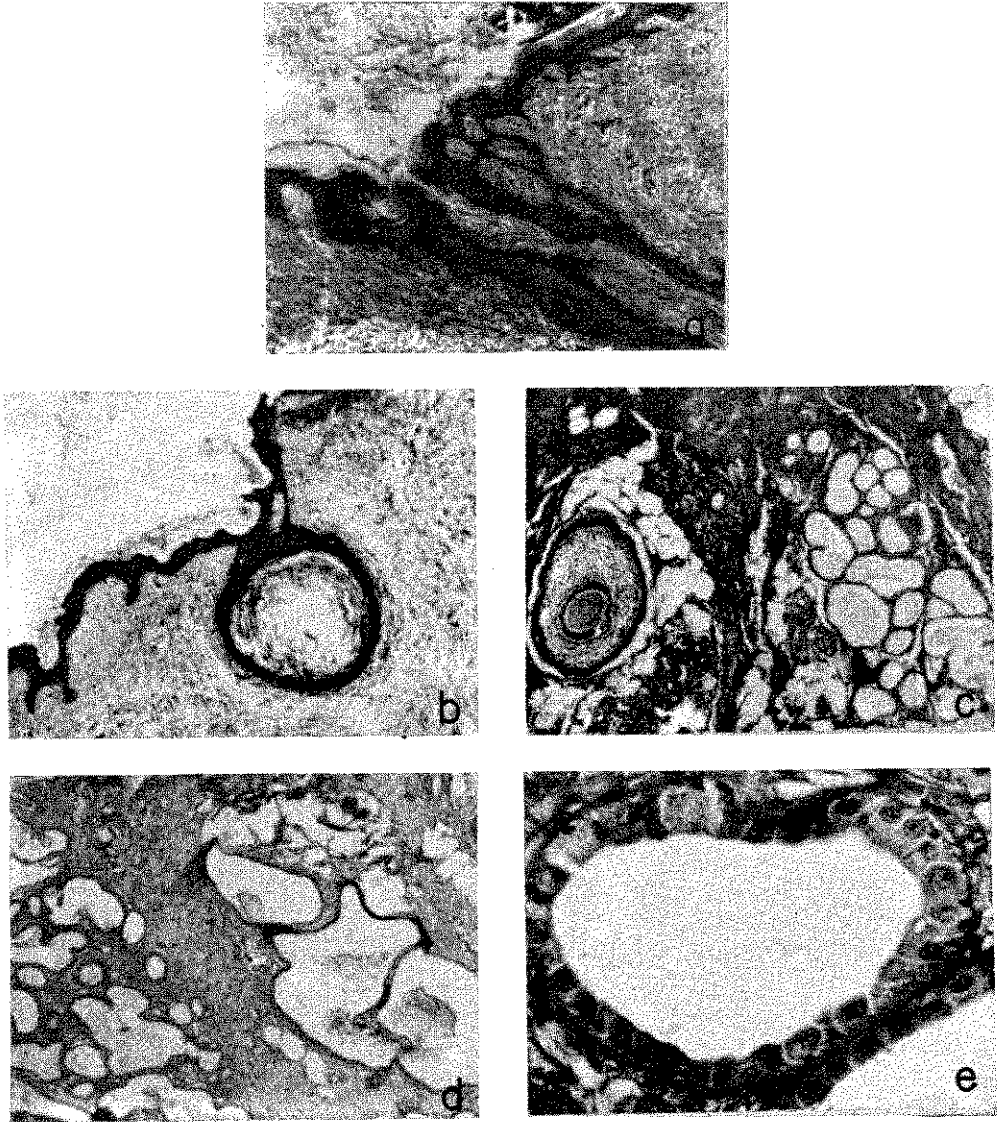


Fig. 1 a) Corte de pele da região axilar; fístula com revestimento e descamação córnea. 25x (lupa). H. eosina.
b) Corte de pele da região axilar, seção de cisto com espessa queratinização. 25x (lupa). H. eosina.
c) Glândulas apócrinas dilatadas, algumas císticas, contendo material amorfo. 160x. H. eosina.
d) Glândulas apócrinas dilatadas. 160x. H. eosina.
e) Glândula apócrina dilatada com epitélio alto, sem retenção. 400x. H. eosina.

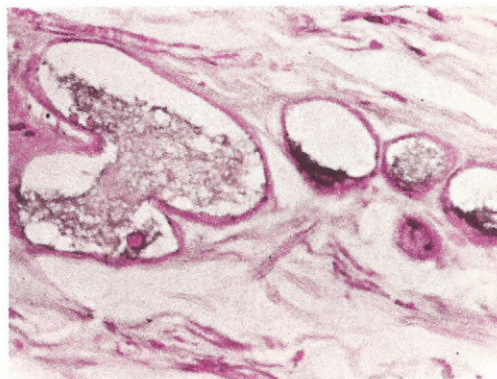
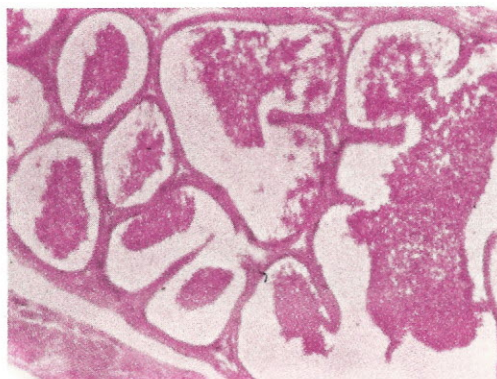
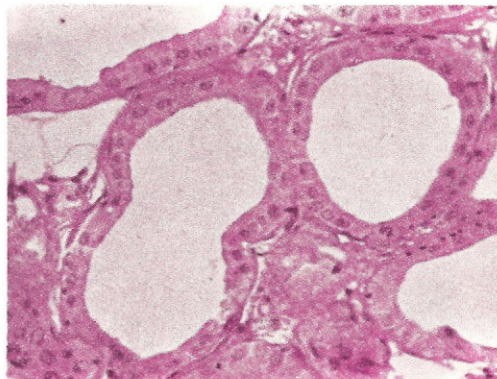
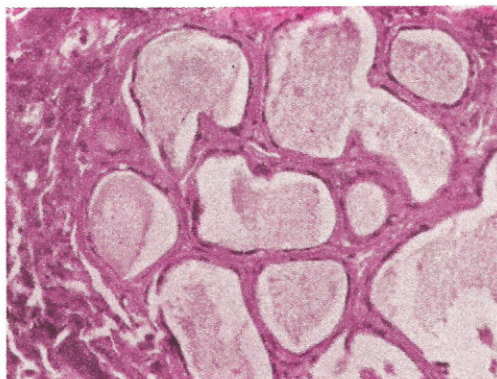
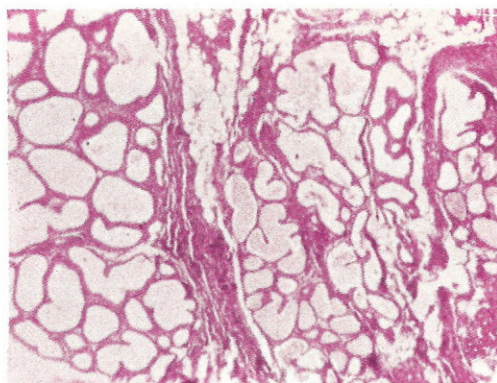


Fig. 2 a) Glândulas apócrinas dilatadas com e sem retenção. H. eosina.
b) Glândulas apócrinas dilatadas com retenção de secreção e atrofia do epitélio. H. eosina.
c) Glândulas apócrinas dilatadas, sem retenção, epitélio alto. H. eosina.
d) Glândulas apócrinas dilatadas, com retenção, P A S positivo (polissacarídeos).
e) Glândulas apócrinas dilatadas, com retenção, Alcian-blue positivo (polissacarídeos ácidos).

RIAL-A/415

CAMPOS, E. P.; MASSIGNANI, A. M. & SILVA, F. R. — Fox-Fordyce disease (miliaria apocrina) in the axillae: histopathologic diagnosis and histochemistry. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 35-39, 1975/76.

SUMMARY: A case of Fox-Fordyce disease was diagnosed through histologic examination of a biopsy from the left axilla. The patient was a white adult female who presented an intense pruritus in both axillae. Fistulae appeared later. Hyperkeratosis, acanthosis, occlusion of gland ducts, dilation of apocrine gland ducts and a chronic inflammatory infiltrate of the outer annexes was noted. P A S and Alcian Blue staining techniques were positive for mucopolysaccharides and acid mucopolysaccharides in the contents of the dilated ducts and glands. The saliva test for glycogen did not change the P A S and Alcian Blue tests.

DESCRIPTORS: Fox-Fordyce disease in axillae, histopathologic diagnosis and histochemistry; miliaria apocrina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BECHELLI, L.M. & CURBAN, G.V. — *Compendio de dermatologia*. São Paulo, [s.l.] 1960. p. 733-5.
2. GRAHAM, J.H.; SHAFER, J.C.; HELWIG, E.B. — Fox-Fordyce disease in male identical twins. *Arch. Derm. Syph.*, 82: 212-21, 1960.
3. MONTEGOMERY, H. — *Dermatopathology*. New York, Harper & Row, c1967. v. 1, p. 501-5.
4. PEARSE, A.G.E. — *Histoquímica teórica y aplicada*. Versión española de Tomas Palomo Salas. Madrid, Aguilar, 1960.
5. *Ibid.* p. 485-6.
6. SHELLEY, W.B. & LEVY, E.J. — Apocrine sweat retention in man. II. Fox-Fordyce Disease (apocrine miliaria). *Arch. Derm.*, 73: 38-49, 1956.

Recebido para publicação em 29 de julho de 1975.

CROMOBLASTOMICOSE EM PACIENTE COM HANSENIASE *

Evandro Pimenta de CAMPOS **
José Marcelo da Motta GUERRA ***
Miécio Martiniano de AZEVEDO **
Hassib ASHCAR ****
Adriana Manginelli MASSIGNANI **
Januário DELLE CAVE **

RIAL-A/416

CAMPOS, E.P.; GUERRA, J.M.M.; AZEVEDO, M.M.; ASHCAR, H.;
MASSIGNANI, A.M. & DELLE CAVE, J. — Cromoblastomicose em
paciente com hanseníase. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 41-46, 1975/76.

RESUMO: Um paciente procedente da Amazônia, Brasil, seringueiro, portador de uma forma branqueada de hanseníase, tratado com sulfonas, tendo como seqüelas lesões distróficas das extremidades e manchas hipocrômicas, com perturbações da sensibilidade, apresentou no hipocôndrio esquerdo uma lesão verrucosa extensa, com evolução de mais de 10 anos, rebelde aos tratamentos feitos. Foram feitas biópsias para esclarecimento histopatológico da doença, tendo-se concluído tratar-se de dermatite verrucosa cromomictótica, com presença dos fungos bem caracterizados pelas colorações de rotina, e histoquímicas. A cultura do material obtido da lesão em meio ágar-Sabouraud deu crescimento a colônia gigante com as características típicas do gênero *Phialophora*: hifas septadas e conidióforos com morfologia de taça. O tratamento, na falta de 5-fluorocitosina, foi feito com infiltrações de anfotericina B, associada a iodureto de sódio, endovenosamente, estando a lesão em plena regressão. Os exames histopatológicos das lesões discrômicas mostraram apenas infiltrado linfoplasmocitário e ausência de bacilos álcool-ácido resistentes íntegros.

DESCRITORES: cromoblastomicose na lepra; *Phialophora verrucosa*; lepra e cromoblastomicose; dermatite verrucosa cromoparasitária; doença de Pedroso e Carrion; doença de Lane e Pedroso; figueira; hanseníase.

I N T R O D U Ç Ã O

A dermatite verrucosa cromoparasitária, ou simplesmente cromomictose, ou cro-

moblastomicose tem uma série de denominações, ligadas aos autores que estudaram essa dermatose, ou oriundas do lugar onde ela foi constatada; encontram-se pois, na

* Realizado na Divisão de Patologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P. e no Hospital Padre Bento, São Paulo, S.P. Apresentado no 1.º Congresso Latinoamericano de Terapêutica Dermatológica, realizado em Buenos Aires, Argentina, de 14 a 19 de junho de 1975.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Do Hospital Padre Bento.

**** Do Instituto Adolfo Lutz e do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

literatura, como assinala LACAZ⁴, mais as seguintes denominações: Doença de Fonseca; Doença de Pedroso, Doença de Gomes, Doença de Pedroso e Carrion, Moléstia de Guiteras, Micose de Lane e Pedroso, Dermatite verrucosa cromomicótica, Figueira, Espúndia, Pé muscoso, Formigueiro, Sunda, Susna e Blastomicose negra.

No presente caso, a localização rara no hipocôndrio esquerdo e a sua concomitância com lesões distróficas de lepra levaram-nos a esta comunicação.

A maior percentagem de casos publicados refere-se às lesões das extremidades e não há referências de casos de associação com lepra, mas apenas com histoplasmose ou leishmaniose, referidas por LACAZ⁴. As lesões caracterizam-se, no seu estágio mais avançado, por formações de aspecto verrucoso, vegetantes, sangrando facilmente, múltiplas, isoladas ou confluentes, apresentando variações que podem ser confundidas com lesões cutâneas verrucosas da tuberculose, da sífilis e da psoríasis. No presente caso, a lesão é única, de superfície, nitidamente verrucosa e descamativa, bordos irregulares, chamando a atenção uma área central hiperocrômica de aspecto involutivo. A lesão de hanseníase apresenta características da lepra — forma branqueada — tratada, com seqüelas tróficas.

ESTUDO CLÍNICO

Apresentação do caso

J.C.S., 32 anos, sexo masculino, mestiço, procedente da Amazônia, onde exercia a profissão de seringueiro, refere que há 18 anos apareceram manchas hipocrômicas com diminuição da sensibilidade local, principalmente no dorso e membros; concomitantemente, dores fortes nos trajetos dos nervos ciático-poplíteo e radial, evoluindo com atrofia e deformidades ósseas das extremidades. Após 6 meses do início dos sintomas, começou o tratamento com sulfonas, estabilizando-se o quadro clínico. Esteve internado em hospital no Acre (Rio Branco), em virtude de problemas ortopédicos ocasionados pela doença. Na situa-

ção atual, sob o ponto de vista da hanseníase, trata-se de um paciente com a doença estabilizada pelo tratamento — lepra, forma branqueada — com deformidades das extremidades, pés e mãos, e extensas manchas hipocrômicas com anestesia em várias regiões do corpo.

Em relação à lesão do abdômen, informa que há mais de 10 anos, trabalhando como seringueiro na região Amazônica, costumava carregar cestos cheios, que eram apoiados sobre o abdômen nu, pois trabalhava sem camisa, como é costume naquela região. Notou nessa ocasião o aparecimento de um caroço do tamanho de um botão de camisa, intensamente pruriginoso, que foi crescendo lentamente, até atingir as dimensões atuais, e que tratou apenas com remédios caseiros, sem sucesso. Essa lesão, com o evoluir, tornou-se de aspecto verrucoso e as manchas hipocrômicas da doença anterior confundiam-se com a lesão.

Exame Dermatológico — Notam-se manchas hipocrômicas e anestésicas de limites bem nítidos localizadas de modo assimétrico nas regiões dorsal, abdominal, nádegas e nos membros. Outras lesões residuais de hanseníase são constituídas por distrofias das extremidades, com aspecto de “mão em garra”, e espessamentos de nervos radiais e ciático-poplíteo. A lesão do abdômen é constituída por formação de superfície nitidamente verrucosa, descamativa, de bordos irregulares medindo 12,0 x 7,5 cm em seus maiores diâmetros, chamando a atenção a parte central hiperocrômica, com aspecto involutivo. Refere o paciente ser a lesão intensamente pruriginosa.

ESTUDO ETIOLÓGICO

Material e Método

O material utilizado em nosso trabalho foi obtido de biópsias da lesão verrucosa do abdômen das áreas discromicas e por es-carificação da lesão abdominal. Os cortes histopatológicos foram corados pela hematoxilina-eosina. As colorações específicas para bacilos álcool-ácido resistentes foram

feitas pelo método de Fite-Faraco, segundo a técnica descrita no Manual of histologic and special staining technics², sendo que substituímos o óleo de amendoim pelo óleo de arroz, que já vimos usando em nosso laboratório, com vantagem de ser óleo fino, mais fácil de se trabalhar e fornece lâminas mais nítidas e transparentes, do que quando se usam outros óleos. Para melhor identificação dos fungos, utilizamos o método de Gomori para fungos, segundo a técnica descrita no mesmo Manual³. O material obtido por escarificação, semeado em meio ágar-Sabouraud, foi examinado após 30 dias de incubação, a 25°C.

RESULTADOS

Os cortes obtidos de biópsias da lesão do abdômen, corados pela hematoxilina-eosina, mostram hiperqueratose, acantose, infiltrado inflamatório linfo-plasmocitário, células epitelióides e células gigantes, tipo corpo estranho, contendo algumas delas em seu interior parasitas com morfologia e coloração características da cromomicose, isto é, corpúsculos arredondados isolados ou aglomerados, alguns com septação, coloração acastanhada. Esses fungos se encontram também dentro de microabscessos, íntegros ou destruídos parcialmente, localizados na derme; também são vistos livres entre as células da epiderme; em raros pontos, divisam-se filamentos septados. Esta lesão pode ser classificada como forma dermo-epidérmica segundo TIBIRIÇA⁵. Encontra-se disseminado irregularmente pelos tecidos pigmento acastanhado. Nas áreas de discromia, apenas se nota um discreto infiltrado linfoplasmocitário perivascular e perianexial, e aglomerados de células claras vacuolizadas.

Os cortes corados pelo método de Fite-Faraco mostram pequenas granulações, esparsas e aglomeradas, coradas pela fucsina de Ziehl, que poderiam ser interpretadas como restos de bacilos álcool-ácido resistentes. Nessas mesmas lâminas encontram-se nitidamente corados os fungos que adquirem, por este método, cor azulada em seu interior, conferida pelo azul de meti-

leno e, na periferia, um composto de preto e vermelho (rosa-velho). Pelo método de Gomori, os fungos se apresentam bem configurados, com a parte central acastanhada e periferia preta.

Exame Micológico — Feitas as sementeiras no meio de ágar-Sabouraud, após 30 dias, a 25°C, houve desenvolvimento de colônia preta com pigmento negro, que se difunde no substrato. O exame microscópico mostra a presença de hifas septadas, terminando em conidióforos característicos com forma de taça, contendo conídeos. As formações em taça após 30 dias ainda são raramente encontradas (CONANT *et alii*¹).

Tratamento — Feito o diagnóstico de cromomicose, na falta de 5-fluorocitosina, fizemos infiltrações locais de anfotericina B, na dosagem de 20 mg em 10 ml de soluto fisiológico, duas vezes por semana, e associamos iodureto de sódio a 10%, três vezes por semana, via endovenosa, estando a lesão em franca regressão.

COMENTÁRIOS

A oportunidade que se nos ofereceu de estudar lesão de aspecto verrucoso e descamativa em paciente internado com sequelas de lepra, forma branqueada, tratada pela sulfona proporcionou-nos obter diagnóstico etiológico dessa lesão e instituir beneficemente o tratamento possível no momento, ou seja, infiltrações com anfotericina B. A pesquisa do agente etiológico não ofereceu dificuldades nos cortes histopatológicos, em virtude das características morfológicas e tintoriais do agente da cromomicose, e da cultura que também mostrou crescimento de hifas com formação de conidióforos em forma de taça, peculiares à espécie *Phialophora verrucosa*.

Em relação às alterações provocadas pela hanseníase, apenas se notou infiltrado inespecífico e granulações fucsínófilas. Pelo método de coloração de Fite-Faraco, para bacilos álcool-ácido resistentes, verificamos que os fungos se apresentavam com morfologia característica.

O costume que tem o seringueiro, na região Amazônica, de trabalhar sem camisa, favorece o atrito dos cestos transportadores de borracha com a pele nua, o que provoca lesões cutâneas de localizações raras, como no presente caso.

A associação da cromomicose com outras doenças já tem sido descrita, citando-se a leishmaniose; no entanto, da associação da cromomicose com a hanseníase, é esta a primeira comunicação.

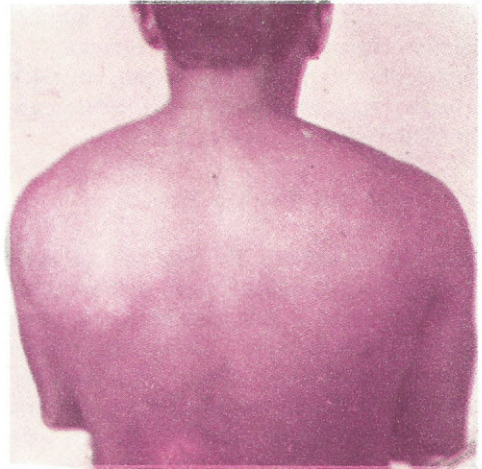


Fig. 1 a) Lesões distróficas das mãos, lesão verrucosa do abdômen, em regressão.
b) Lesões discrômicas do dorso.

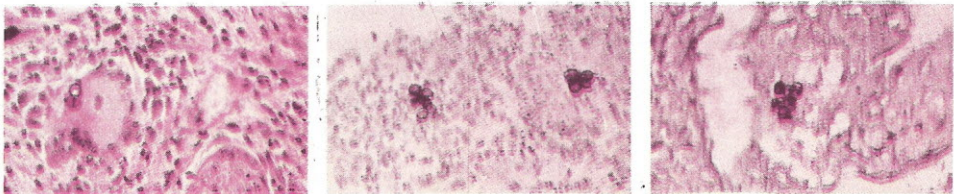


Fig. 2 a) Granuloma cromomicótico-gigantocito, tipo corpo estranho, com fungos. H. eosina.
b) Fungos corados pelo método de Fite-Faraco.
c) Fungos corados pelo método de Gomori para fungos.

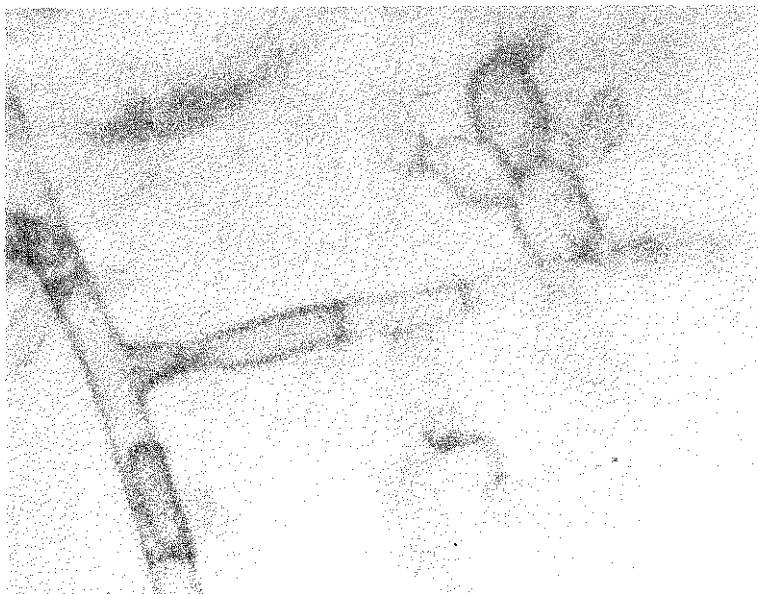


Fig. 3 — Lâmina da cultura de *Phialophora verrucosa* do material semeado; filamentos septados e conidióforos em forma de taça. Sem corar. Ampliada.

RIAL-A/416

CAMPOS, E.P.; GUERRA, J.M.M.; AZEVEDO, M.M.; ASHCAR, H.; MASSIGNANI, A.M. & DELLE CAVE, J. — Chromoblastomycosis in patient recovered from leprosy. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 41-46, 1975/76.

SUMMARY: A 32 years old half-breed male coming from Amazonia, Brazil, had been treated with sulfone and was showing sequelae including dystrophic lesion of the extremities and hypochromia with anesthesia. On examination he showed an extensive verrucous lesion on the left hypochondrial region which had lasted 10 years and was resistant to various treatments. This lesion had apparently started when leprosy was in activity. A biopsy of the verrucous lesion showed the picture of verrucous dermatitis with fungi evidenced by common and histochemical staining techniques. Inoculation of Sabouraud agar yielded a giant colony whose members showed filaments and conidiospores with formation of cups typical of *Phialophora verrucosa*. Amphotericin was infiltrated in the lesion associated with natrium iodide and recovery ensued. Dyschromic lesions showed lymphoplasmodiocyte infiltrate and absence of acid-fast bacilli.

DESCRIPTORS: chromoblastomycosis in leprosy; *Phialophora verrucosa*; leprosy and chromoblastomycosis; dermatitis, verrucosa; Pedroso and Carrion's disease; Lane and Pedroso's disease; figueira; hanseníase.

CAMPOS, E.P.; GUERRA, J.M.M.; AZEVEDO, M.M. ASHCAR, H.; MASSIGNANI, A.M. & DELLE CAVE, J. — Cromoblastomicose em paciente com hanseníase. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 41-46, 1975/76.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CONANT, N.F.; SMITH, D.T.; BAKER, R.D. & COLLARYAY, J.L. *Manual de Micologia*. 3.^a ed. Barcelona, Interamericana, 1972. p. 402-4.
2. ESTADOS UNIDOS. Armed Forces Institute of Pathology. *Manual of histologic and special staining technics*. Washington, D. C., 1957. p. 177.
3. *Ibid.* p. 190-1.
4. LACAZ, C.S. — *Manual de micologia médica*. 3.^a ed. rev. ampl. Rio de Janeiro, Atheneu, 1960. p. 352-68.
5. TIBIRIÇÁ, P.Q.T. — *Anatomia patológica da dermatite verrucosa cromomicótica*. São Paulo, 1939. [Tese livre-doc. — Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo].

Recebido para publicação em 29 de julho de 1975.

TRAÇOS DE METAIS EM CABELOS HUMANOS *

Myrian de TOLEDO **
Germinio NAZÁRIO **

RIAL-A/417

TOLEDO, M. & NAZÁRIO, G. — Traços de metais em cabelos humanos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 47-53, 1975/76.

RESUMO: Foram determinadas concentrações de cálcio, magnésio, zinco, potássio, ferro e cobre em cabelos humanos, por espectrofotometria de absorção atômica, pelo método convencional com chama.

As amostras foram colhidas no Vale da Ribeira, São Paulo, Brasil, cuja população vive em ambiente agrário e litorâneo, longe de concentrações industriais, sendo por isso difícil atribuir à poluição ambiental e intoxicações a presença dos metais encontrados. Foram estudadas interferências devidas ao tratamento químico de mineralização das amostras.

DESCRIPTORIOS: cabelo humano, traços de metais; metais, traços em cabelo humano; espectrofotometria de absorção atômica, traços de metais em cabelo.

I N T R O D U Ç Ã O

A determinação de traços de metais em cabelos humanos tem sido utilizada por autores diversos como meio auxiliar de vigilância no diagnóstico de envenenamentos crônicos e subagudos por metais tóxicos, bem como no estudo de estados carenciais de elementos minerais essenciais às pessoas saudáveis, sob o ponto de vista nutricional. O presente trabalho constitui parte de um estudo na tentativa de correlacionar os dados encontrados com o quadro clínico dos indivíduos examinados***.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Seleção de grupos humanos

As amostras de cabelo foram colhidas entre a população do Vale da Ribeira, em duas regiões distintas: Região A — Ribeira, Barra do Chapéu e Apiaí, e Região B — Iguape, Icapara e Pontal.

A população foi dividida em dois grupos: masculino e feminino que, por sua vez, foram subdivididos em dois, com idade menor que 18 anos e com idade maior ou igual a 18 anos.

* Realizado na Seção de Equipamentos Especializados do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** O estudo foi executado durante o ano de 1970, em colaboração com a cadeira de Nutrição, dirigida pelo Prof. Dr. Yaro Ribeiro Gandra, da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da U.S.P. A utilização dos dados clínicos será objeto de posterior publicação.

2. Amostra

Colheita

As amostras de cabelo foram tiradas da região posterior da cabeça, distantes aproximadamente cinco milímetros do couro cabeludo, em segmentos de um a três centímetros, em zonas não contíguas.

Tratamento

Os segmentos de cabelo foram lavados com solução a 1%, p/v, de lauril sulfato de sódio (previamente testada para os metais em estudo). Os cabelos foram posteriormente lavados com água desmineralizada para completa remoção da solução de lauril sulfato de sódio e, finalmente, secos em estufa.

Mineralização

Foram experimentadas diversas técnicas de destruição da matéria orgânica. A técnica considerada por nós como mais eficiente foi a descrita a seguir:

Reagentes

Ácido sulfúrico (D=1,84)
Ácido nítrico (D=1,40)
Ácido clorídrico (D=1,18)
Ácido perclórico (D=1,67)

Soluções padrão de 1000 p.p.m. de zinco, potássio, magnésio, cobre, cálcio, ferro e respectivas soluções diluídas (ver tabela 1).

Solução de lantânio, contendo 1% de lantânio em ácido clorídrico, a 5%, p/v (preparada a partir do óxido de lantânio).

Nota: todos os reagentes deverão ser puros para análise e a água deverá ser desmineralizada.

Procedimento

Pese exatamente cerca de 50 mg de cabelo, previamente preparado, em

tubo limpo de boro-silicato graduado. Adicione 4 gotas de ácido sulfúrico e 2 ml de ácido nítrico. Aqueça em banho de areia até carbonização. Esfrie. Adicione 2 gotas de ácido perclórico e aqueça novamente até a solução ficar clara (CHEN *et alii* 1). Esfrie e complete o volume de 10 ml com água desmineralizada. Trate os padrões da mesma maneira, para evitar interferências. Dose nesta solução: Cu, Zn, K, Mg e Fe. Se as determinações não forem efetuadas no mesmo dia, conserve a solução em tubo plástico com tampa. Para dosagem de cálcio, dilua uma alíquota da solução com o mesmo volume de solução de lantânio, como recomenda SLAVIN⁴; assim, a concentração final passa a ser 50 mg de cabelo em 20 ml da solução, contendo 0,5% de lantânio em ácido clorídrico a 2,5%. Proceda da mesma forma com o padrão de cálcio.

Nota — Faça sempre um branco. No caso de cálcio, faça um branco diluído com solução de lantânio.

Determinação dos metais

As determinações de cálcio, cobre, ferro, potássio, magnésio e zinco foram feitas por espectrofotometria de absorção atômica, pelo método convencional com chama.

O aparelho usado foi um espectrofotômetro de absorção atômica Perkin-Elmer, modelo 303, equipado com registrador Perkin-Elmer 165 e lâmpadas com catodo oco para Mg, Zn, Cu, Fe e Ca, e arco de descarga para K.

A tabela 1 mostra as concentrações mais adequadas para cada metal:

Interferências

Foram comparadas leituras de padrões aquosos e tratados da mesma maneira que a amostra. Verificamos que é obrigatório o mesmo tratamento para amostras e padrões (fig. 1, 2, 3, e 4), exceto para os casos do potássio e do ferro, como pode ser verificado nas figuras 5 e 6.

TABELA 1

Condições experimentais para a dosagem de traços de metais em cabelos humanos, por espectrofotometria de absorção atômica

Elementos	Comprimento de onda nm	Chama	Escala	Fenda nm	Soluções padrão p.p.m.
Mg	285,2	ar-C ₂ H ₂	1	0,7	0,1 - 0,2 - 0,5 - 1,0 - 2,0 - 5,0
K	766,5	idem	3	4,0	0,5 - 1,0 - 2,0 - 5,0
Zn	213,9	idem	1	0,7	0,5 - 1,0 - 2,0 - 5,0
Fe	248,3	idem	10	0,2	0,1 - 0,2 - 0,5 - 1,0
Cu	324,7	idem	10	0,7	0,05 - 0,1 - 0,2 - 0,5
Ca	422,7	idem	1 ou 3	1,4	1,0 - 2,0 - 5,0 ou 0,2 - 0,5 - 1,0 - 2,0

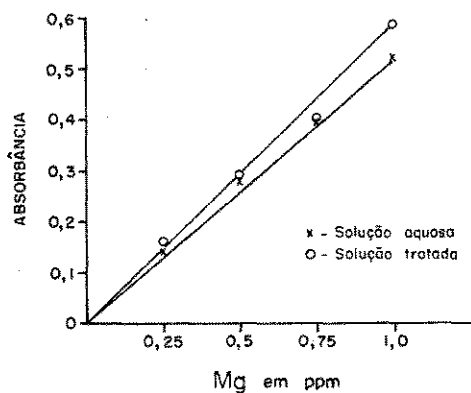


Fig. 1 — Gráfico comparativo para magnésio, padrões aquoso e tratado. Leituras em escala 1.

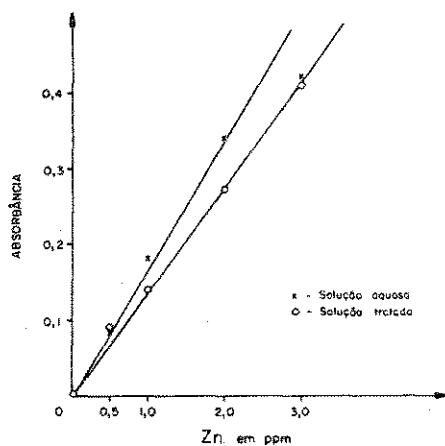


Fig. 2 — Gráfico comparativo para zinco, padrões aquoso e tratado. Leituras em escala 1.

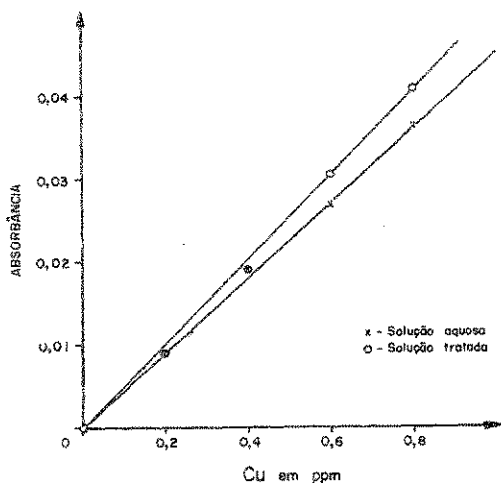


Fig. 3 — Gráfico comparativo para cobre, padrões aquoso e tratado. Leituras em escala 3.

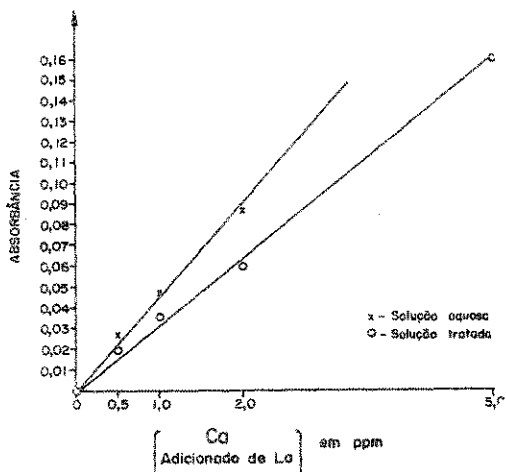


Fig. 4 — Gráfico comparativo para cálcio, padrões aquoso e tratado. Leituras em escala 3.

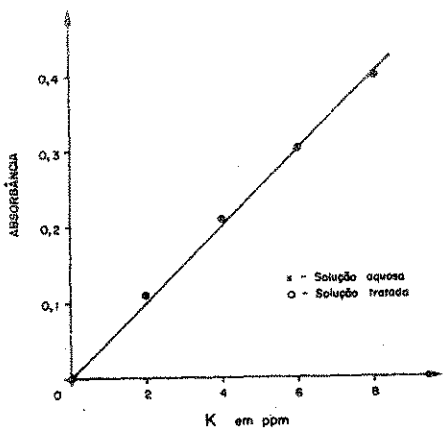


Fig. 5 — Gráfico comparativo para potássio, padrões aquoso e tratado. Leituras em escala 1.

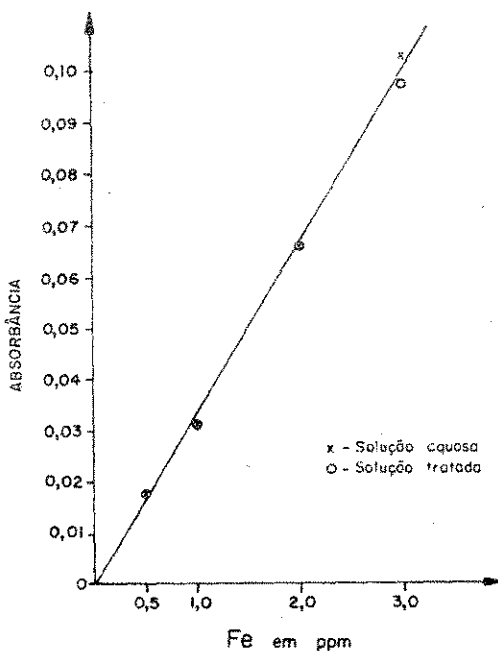


Fig. 6 — Gráfico comparativo para ferro, padrões aquoso e tratado. Leituras em escala 3.

TABELA 2
Valores obtidos na análise de metais em cabelos humanos

(Continua)

Elemento analisado	Grupo	REGIAO A Barra do Chapéu, Apiaí, Ribeira				REGIAO B Iguape, Icapara, Pontal			
		N.O de Amostras	Intervalo de idade (anos)	Valor médio ($\mu\text{g/g}$)	Desvio padrão	N.O de Amostras	Intervalo de idade (anos)	Valor médio ($\mu\text{g/g}$)	Desvio padrão
CÁLCIO	Feminino	22	< 18	482	184,29	60	< 18	490	414,15
		19	≥ 18	500	151,92	50	≥ 18	575	337,41
	Masculino	18	< 18	377	157,80	24	< 18	594	231,76
		11	≥ 18	847	777,47	9	≥ 18	642	178,05
	Feminino Total	41	Todas as idades	491	170,29	110	Todas as idades	528	383,56
Masculino Total	29	Todas as idades	555	543,24	33	Todas as idades	609	219,73	
Ambos os sexos Total Geral	70	Todas as idades	517	374,50	143	Todas as idades	547	354,19	
MAGNÉSIO	Feminino	22	< 18	87	63,74	61	< 18	56	36,38
		19	≥ 18	96	61,69	70	≥ 18	78	69,94
	Masculino	18	< 18	63	42,79	24	< 18	75	52,02
		11	≥ 18	102	63,66	26	≥ 18	65	44,41
	Feminino Total	41	Todas as idades	91	62,94	131	Todas as idades	68	57,62
Masculino Total	29	Todas as idades	78	55,04	50	Todas as idades	70	48,50	
Ambos os sexos Total Geral	70	Todas as idades	86	60,17	181	Todas as idades	68	55,41	

(Conclusão)

Elemento analisado	Grupo	REGIAO A Barra do Chapéu, Apiai, Ribeira				REGIAO B Iguape, Icapara, Pontal			
		N.º de Amostras	Intervalo de idade (anos)	Valor médio ($\mu\text{E/g}$)	Desvio padrão	N.º de Amostras	Intervalo de idade (anos)	Valor médio ($\mu\text{E/g}$)	Desvio padrão
ZINCO	Feminino	22	< 18	166	42,80	61	< 18	171	54,27
		19	\geq 18	195	30,15	69	\geq 18	199	77,37
	Masculino	18	< 18	113	29,02	24	< 18	172	58,40
		11	\geq 18	196	42,69	26	\geq 18	190	68,24
	Feminino Total	41	Todas as idades	180	41,09	130	Todas as idades	186	68,92
Masculino Total	29	Todas as idades	144	53,47	50	Todas as idades	182	64,33	
Ambos os sexos Total Geral	70	Todas as idades	165	49,30	180	Todas as idades	184	67,70	
POTASSIO	Feminino	10	18 a 30	32	19,39	20	18 a 30	110	73,04
	Masculino	10	18 a 30	88	34,87	16	18 a 30	136	82,45
	Ambos os sexos Total Geral	20	18 a 30	60	39,75	36	18 a 30	122	78,41
FERRO	Feminino	8	18 a 30	21	22,26	20	18 a 30	34	10,14
	Masculino	10	18 a 30	26	27,24	16	18 a 30	59	25,36
	Ambos os sexos Total Geral	18	18 a 30	16	11,49	36	18 a 30	45	22,55
COBRE	Feminino	19	18 a 30	7,0	2,15	20	18 a 30	14,3	2,54
	Masculino	10	18 a 30	8,1	2,80	13	18 a 30	27,7	10,55
	Ambos os sexos Total Geral	29	18 a 30	7,6	2,57	33	18 a 30	19,6	9,53

RESULTADOS E CONCLUSÃO

A análise da tabela 2 demonstra que, aparentemente, a quantidade de traços de metais no cabelo pode variar consideravelmente de indivíduo para indivíduo de uma mesma região, independente de sexo e da idade. Os valores mais altos, geralmente encontrados na região B, talvez se relacionem com os hábitos alimentares.

Em relação ao cobre, os dados encon-

trados na literatura^{2,3} são sempre mais elevados que os encontrados em nosso trabalho, nos indivíduos da região A.

A população examinada vive em ambiente agrário e litorâneo, longe de concentrações industriais, onde a poluição provocada pelo homem ainda não chegou, sendo portanto difícil relacionar a presença desses metais no cabelo com qualquer tipo de poluição ou intoxicação.

RIAL-A/417

TOLEDO, M. & NAZARIO, G. — Metal traces in human hair. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 47-53, 1975-76.

SUMMARY: The concentration of calcium, magnesium, zinc, potassium, iron and copper in the human hair was determined by atomic absorption spectrometry through the conventional flame method.

Hair samples were gathered at Vale da Ribeira, São Paulo, Brazil, where the population lives in an agrarian and littoral environment, away from industrial centers, what makes it difficult to impute the presence of those metals to the intoxication and environment pollution.

The interferences due to the mineralization chemical treatment of the samples were also studied.

DESCRIPTORS: metals, determination of traces in human hair; hair (human), determination of metal traces; atomic absorption spectrometry, determination of metal traces in hair.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CHEN, P. S., JR; TORIBARA, T. Y. & WARNER, H. — Microdetermination of phosphorus. *Analyt. Chem.*, 28: 1756-8, 1956.
2. HARRISON, W. W.; YURACHEK, J. P. & BENSON, C. A. — The determination of trace elements in human hair by atomic absorption spectroscopy. *Clin. Chim. Acta*, 23: 83-91, 1969.
3. SCHROEDER, H. A. & NASON, A. P. — Trace metals in human hair. *J. Invest. Dermatol.*, 53: 71-8, 1969.
4. SLAVIN, W. — Atomic absorption spectroscopy. New York, Interscience, 1968. p. 87. [Chemical analysis, v. 25]

Recebido para publicação em 6 de agosto de 1975.

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FÓSFORO EM PRODUTOS CÁRNEOS I. MÉTODO PARA DOSAGEM DO FÓSFORO *

Celso Augusto Fessel GRANER **
Dirceu Rodrigues MEIRA ***
Pasqual MUCCILO ***

RIAL-A/418

GRANER, C.A.F.; MEIRA, D.R. & MUCCILO, P. — Determinação do teor de fósforo em produtos cárneos. I. Método para dosagem do fósforo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 55-62, 1975/76.

RESUMO: Foram estudadas diversas variáveis operacionais de método do ácido fosfovanadomolibdico de determinação do fósforo, a fim de se montar um procedimento analítico simples, rápido, preciso e exato para dosagem do referido elemento em produtos cárneos. Os dados obtidos foram comparados com os provenientes do método oficial do Instituto Adolfo Lutz, mostrando-se estatisticamente não diferentes, e caracterizando o procedimento proposto como adequado ao levantamento a ser feito.

DESCRITORES: produtos de carne, determinação de fósforo; fósforo, determinação em produtos de carne; ácido fosfovanadomolibdico na determinação de fósforo em produtos de carne.

I N T R O D U Ç Ã O

A legislação brasileira de aditivos químicos em alimentos admite um máximo de 0,5% de polifosfatos em produtos cárneos (BRASIL⁵). Entretanto, além de o termo "polifosfato" não caracterizar adequadamente a forma sob a qual a concentração de fósforo deva ser expressa, a legislação ainda deixa margem a dúvidas no que diz respeito a esse teor referir-se a peso seco ou úmido do material em questão.

Dosagens preliminares revelaram a possibilidade de fósforo, expresso como P, vir a estar ocorrendo em teor superior a 0,5% no peso seco de alguns produtos cárneos adquiridos no mercado. Em termos de P_2O_5 ou de PO_4^{3-} , tal excesso em relação ao máximo legalmente permitido se evidenciaria mais ainda, caracterizando a necessidade de um levantamento sistemático da concentração de fósforo em tais produtos.

* Trabalho realizado no Departamento de Química da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, S.P.

** Do Departamento de Química da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu.

*** Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu.

O elevado número de análises a serem efetuadas nesse levantamento exige um método simples, rápido, e com suficiente precisão e exatidão para a dosagem do fósforo em produtos cárneos. Por essa razão, como primeira parte da pesquisa proposta, objetivou-se a montagem de um procedimento analítico que reúna as características necessárias.

Pequenas quantidades de fósforo têm sido determinadas nos mais variados materiais por dois métodos colorimétricos principais, o do ácido fosfomolibdico e o do ácido fosfovanadomolibdico. O primeiro deles, mais sensível, baseia-se na formação de uma espécie química azul em meio ácido, através da reação entre íons fosfato e molibdato, e na presença de um redutor seletivo; o segundo, baseia-se na formação de um composto amarelo, também em meio ácido, através da reação entre íons fosfato, molibdato e vanadato (BOLTZ & LUECK²; GOING & EISENREICH⁸). Ambos os métodos são bastante versáteis, permitindo a dosagem do fósforo em materiais os mais diversos.

O do ácido fosfomolibdico parece sofrer maior número de interferências, quer de outros elementos (BOLTZ & LUECK²; DUFF & STUART⁶) quer de variáveis operacionais como acidez do meio e concentração de reagentes (BRAGA & DeFELIPO⁴), e ainda do redutor utilizado (WOODS & MELLON¹⁸; KOZHUKHAROV¹¹). Apesar disso, e com modificações de autor para autor, o método já foi usado para a determinação do fósforo em solos (GAVIRIA *et alii*⁷; BRAGA & DeFELIPO⁴), em tecidos vegetais (GONZALEZ & BAEZ⁹), em rações (TULS¹⁶), e é preconizado pelo Instituto Adolfo Lutz na análise do fósforo em alimentos (SÃO PAULO¹⁴). Mesmo já sendo bastante sensível, o composto azul formado presta-se também à extração com solventes, o que aumenta ainda mais a sensibilidade do método (BITTENCOURT & ZAMBELLO JR.¹).

Segundo QUINLAN & DeSESA¹³, o método do ácido fosfovanadomolibdico teria sido proposto por Mission em 1908. Des-

de essa data, muitos trabalhos introduziram modificações no método original, visando definir condições de acidez do meio, concentrações de molibdato e metavanadato, formação e estabilidade da cor do composto formado, comprimento de onda de máxima absorção, entre outras. A sua aplicação tem sido na dosagem do fósforo em minério de ferro (WILLARD & CENTER¹⁷), em alimentos (KOENIG & JOHNSON¹⁰), em soro (SIMONSEN *et alii*¹⁵), em rochas uraníferas (QUINLAN & DeSESA¹³), em tecidos vegetais (PELLEGRINO¹²), em rações (TULS¹⁶), em cimento (BOWLEY³) e em diversos outros materiais.

Dos dados bibliográficos levantados, o método do ácido fosfovanadomolibdico parece ser de maior simplicidade no emprego, quer pela qualidade, quantidade e estabilidade dos reativos de que necessita, como pela ausência de interferências nos materiais em que será utilizado. Sua menor sensibilidade é irrelevante, face ao teor de fósforo encontrado normalmente em produtos cárneos.

Por essas razões, esse método será estudado detalhadamente para a montagem de um procedimento analítico que vise a determinação do fósforo em produtos cárneos. Seus resultados serão comparados com aqueles obtidos pelo método oficial do Instituto Adolfo Lutz, para verificar de sua real qualificação para as dosagens do levantamento proposto.

MATERIAL

As amostras de produtos cárneos, quais sejam, salsicha, mortadela, presunto, presunto defumado e rosbife, foram adquiridos em supermercados da cidade de Botucatu. Após secagem em estufa a 100°C até peso constante, as mesmas foram trituradas em gral de porcelana e conservadas em congelador durante o desenvolvimento do trabalho.

MÉTODOS

Os métodos empregados foram: a) em sua essência, aquele descrito por BOLTZ & LUECK² para o procedimento envolvendo

a formação do ácido fosfovanadomolibdico, ou seja, concentrações finais de metavanadato, molibdato e ácido nítrico respectivamente iguais a 0,002 M, 0,01 M e 0,5 N; b) integralmente, excetuando-se a massa de produto cárneo recomendada para tomada, aquele descrito nas Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz¹⁴, envolvendo a formação do ácido fosfomolibdico.

Estudaram-se diversas variáveis operacionais do primeiro método, as quais, depois de padronizadas, originaram a marcha analítica para dosagem do fósforo em produtos cárneos, cujos resultados foram comparados com aqueles obtidos empregando-se o procedimento preconizado pelo referido Instituto.

Reativos

Dos reativos empregados, merecem menção os seguintes:

Solução padrão "estoque" de fósforo: 1,0984 g de fosfato diácido de potássio, KH_2PO_4 , foram dissolvidos em cerca de 450 ml de água destilada num balão volumétrico de 500 ml; juntaram-se 5 ml de ácido clorídrico concentrado, completou-se e homogeneizou-se o volume com água destilada. Esta solução contém 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$, e é aproximadamente 0,1 N em ácido clorídrico.

Solução padrão "de uso" de fósforo: transferiram-se 10 ml da solução padrão "estoque" de fósforo para balão volumétrico de 250 ml, completou-se e homogeneizou-se o volume com água destilada. Esta solução contém 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ e é aproximadamente 0,004 N em ácido clorídrico.

Solução vanadomolibdica: em aproximadamente 300 ml de água destilada quente (80-90°C), dissolveram-se vagarosamente e com agitação constante 1,2 g de metavanadato de amônio, NH_4VO_3 , e mais 12,1 g de molibdato de sódio dihidratado, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; esfriou-se a solução, juntaram-se 170 ml de ácido nítrico concentrado, completou-se e homogeneizou-se o volume a 500 ml com água destilada. Esta solução é aproximadamente 0,02 M em VO_3^- , 0,1 M em MoO_4^{2-} e 5 N em HNO_3 .

Solução de molibdato de amônio: dissolveram-se 31,4 g de molibdato de amônio tetrahidratado, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, em cerca de 200 ml de água destilada e juntou-se esta solução à outra contendo 400 ml de água destilada, 252 ml de ácido sulfúrico e 3,5 ml de ácido nítrico concentrado. Esfriou-se, completou-se e homogeneizou-se o volume a 1 litro com água destilada.

Solução de ácido aminonaftolissulfônico: pulverizou-se, num gral de porcelana, 0,75 g de ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfônico com 2 g de metabissulfito de sódio, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$; transferiu-se o pulverizado para um balão volumétrico de 1 litro, e dissolveu-se com 900 ml de solução contendo 68 g de metabissulfito de sódio e 42 g de sulfito de sódio, Na_2SO_3 . Completou-se e homogeneizou-se o volume com água destilada, conservando-se a solução em frasco escuro.

As medidas de absorvância foram feitas ou no espectrocolorímetro Metrohm E 1009 ou no espectrofotômetro Coleman Jr. II, usando-se respectivamente cubetas de 10 mm de espessura ou tubos de 10 mm de diâmetro.

Curva padrão

Para séries de sete béqueres de 50 ml, transferiram-se:

a) 0,0 — 0,8 — 1,6 — 3,2 — 4,8 — 6,4 e 8,0 ml da solução padrão "de uso" de fósforo (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$);

b) respectivamente 8,0 — 7,2 — 6,4 — 4,8 — 3,2 — 1,6 e 0,0 ml de água destilada;

c) 1,0 ml de solução aproximadamente 6,2 N de ácido clorídrico;

d) 1,0 ml de solução vanadomolibdica.

Os volumes foram homogeneizados, aguardaram-se 10 minutos e procedeu-se às leituras no espectrocolorímetro Metrohm E 1009, a 420 nm, contra a prova em branco.

Os dados obtidos, representando a média de três repetições, encontram-se na tabela 1.

Ensaio de recuperação

Para três séries de três cápsulas de porcelana cada série, de aproximadamente 60 mm de diâmetro, transferiram-se:

a) 0,2000 g de produto cárneo, seco a 100°C e triturado;

b) 0,0 — 2,0 e 4,0 ml da solução padrão "estoque" de fósforo (500 µg/ml).

O material das cápsulas foi seco em banho-maria, e a seguir incinerado a 500-550°C, por 1 a 2 horas, deixando-se em seguida esfriar até a temperatura ambiente. A partir deste ponto, uma prova em branco foi feita simultaneamente com as demais amostras.

O material foi umidecido com 2 a 3 gotas de água destilada, juntaram-se 2 ml de ácido clorídrico concentrado e secou-se em banho-maria; repetiu-se esta operação com 5 ml de solução (1+1) de ácido clorídrico.

Acrescentaram-se 5 ml de solução aproximadamente 1 N de ácido clorídrico, aqueceu-se levemente em banho-maria e transferiu-se o material das cápsulas para balão volumétrico de 50 ml, lavando-se as mesmas com cinco porções de 5 ml de água destilada quente. Depois de esfriados sob água corrente, os balões tiveram seus volumes completados e homogeneizados com água destilada.

Dos extratos assim preparados, transferiram-se 2,0 ml (1,0 ml no caso de presunto defumado) para béqueres de 50 ml, juntaram-se 7,0 ml de água destilada (8,0 ml no caso de presunto defumado) e 1,0 ml da solução vanadomolibdica. As soluções foram homogeneizadas, aguardaram-se 10 minutos e procedeu-se às leituras no espectrocolorímetro Metrohm E 1009, contra a prova em branco.

Os dados obtidos encontram-se na tabela 2, e representam a média de três repetições.

Ensaio de determinação e comparação de métodos

A curva padrão para determinação do fósforo pelo método do ácido fosfomolibdico foi feita no intervalo da concentração de 20 a 160 µg/50 ml, utilizando-se das soluções de molibdato de amônio e de ácido aminonaftolssulfônico já descritas, segundo a marcha analítica referida nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz¹⁴.

O procedimento analítico para a obtenção dos extratos de produtos cárneos foi o mesmo já descrito, porém sem colocação de padrão de fósforo nas amostras. As alíquotas tomadas para a colorimetria variaram segundo o produto cárneo analisado, e o método utilizado.

Os dados obtidos nas determinações por ambos os métodos acham-se na tabela 3, e referem-se a médias de três repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados da tabela 1 mostram que a relação entre a absorvância (A) e a massa de fósforo da solução, em µg de P em 10 ml (volume final da solução submetida à colorimetria) é linear e dada por:

$$\mu\text{g P}/10 \text{ ml} = (A - 0,019) \cdot 264,6$$

sendo o coeficiente de correlação linear, r, igual a 0,9986.

Para se chegar ao procedimento analítico descrito para a obtenção da curva padrão, fixaram-se as concentrações finais de 0,5 M para o ácido nítrico, 0,002 M para o metavanadato e 0,01 M para o molibdato, consideradas ideais para tais reativos, segundo os dados levantados por BOLTZ & LUECK². Entretanto, diferentemente do que os mesmos propuseram, ou seja, tais reativos serem colocados separadamente, neste trabalho verificou-se ser possível o

emprego de uma única solução contendo os três reativos em concentrações tais que reproduzam aquelas consideradas ideais na solução final. Além disso, essa solução, denominada de vanadomolibdica, mostrou-se estável pelo menos por três meses.

Constatou-se ser de 385 nm o comprimen-

to de onda onde ocorre a maior diferença entre as leituras de solução contendo fósforo e de prova em branco, utilizando-se de um espectrofotômetro Coleman Jr. II para as medidas. A adoção de 420 nm como o comprimento de onda para as demais leituras, porém, prende-se ao fato de estar o mesmo ao alcance de equipamento

TABELA 1

Dados referentes à curva padrão para determinação do fósforo em produtos cárneos pelo método do ácido fosfovanadomolibdico. Leituras no espectrocolorímetro Metrohm E 1009, em cubetas de 10 mm de espessura, a 420 nm

µg P/ 10 ml	Absorbância		Desvio padrão relativo %
0	0,000	—	—
16	0,075	±	0,001
32	0,147	±	0,001
64	0,277	±	0,001
96	0,403	±	0,000
128	0,511	±	0,002
160	0,599	±	0,003

TABELA 2

Resultados dos ensaios de recuperação do fósforo adicionado a diversos produtos cárneos, analisados pelo método do ácido fosfovanadomolibdico

Amostra	Quantidade de fósforo em µg de P			Recuperação	
	Adicionado	Determinado	D.P.R. * %	µg	%
Salsicha	—	26,7 ± 0,7	4,37	—	—
	40	67,3 ± 0,4	0,95	40,6	101,5
	80	108,8 ± 0,5	0,85	82,1	102,6
Mortadela	—	43,0 ± 0,8	3,20	—	—
	40	82,6 ± 0,8	1,61	39,6	99,0
	80	124,1 ± 0,0	0,00	81,1	101,4
Presunto	—	61,0 ± 0,7	2,08	—	—
	40	101,8 ± 0,8	1,29	40,8	102,0
	80	140,6 ± 0,7	0,86	79,6	99,5
Presunto defumado	—	42,9 ± 0,0	0,00	—	—
	20	64,5 ± 0,7	1,88	21,6	108,0
	40	83,4 ± 0,3	0,69	40,5	101,2
Rosbife	—	34,7 ± 0,3	1,33	—	—
	40	74,3 ± 1,7	3,92	39,6	99,0
	80	113,0 ± 0,5	0,77	78,3	97,9

* D.P.R. — desvio padrão relativo

TABELA 3

Resultados obtidos na determinação do fósforo em diversos produtos cárneos pelo método do ácido fosfovanadomolibdico proposto, e pelo método do ácido fosfomolibdico, oficial, do Instituto Adolfo Lutz

Amostra	Fósforo determinado				t**
	Método proposto		Método oficial		
	Fósforo %	D.P.R. * %	Fósforo %	D.P.R. %	
Salsicha	0,33 ± 0,01	4,64	0,32 ± 0,00	1,81	2,25
Mortadela	0,53 ± 0,01	3,85	0,53 ± 0,01	1,89	2,60
Presunto	0,77 ± 0,01	2,28	0,75 ± 0,00	0,77	2,75
Presunto def.	1,07 ± 0,00	0,00	1,11 ± 0,03	4,78	1,83
Rosbife	0,43 ± 0,00	1,35	0,42 ± 0,01	3,64	2,41

* D.P.R. — desvio padrão relativo

** t — significância de t a 5% = 2,78

mais simples, à base de filtros ou outro sistema de seleção de comprimento de onda. Além disso, a colorimetria do sistema fósforo - metavanadato - molibdato mais na região do visível minimiza possíveis interferências do ferro.

A acidez proveniente de extratos pode interferir nos valores de absorvância das soluções coloridas, qualquer que seja o ácido empregado na solubilização das cinzas. Assim, preferiu-se juntar ácido clorídrico ao sistema que vai originar a curva padrão, para se aproximarem as condições, em relação a esse ácido, com aquelas provenientes dos extratos. Entretanto, até concentração final igual a 0,1 N em ácido clorídrico, não ocorreu influência nos valores de absorvância de padrões experimentados.

Desde 10 até 60 minutos, a cor das soluções manteve-se estável, confirmando o que outros autores relataram em trabalhos posteriores. Por essa razão, aguardaram-se 10 minutos após a homogeneização final para a colorimetria.

Os dados das tabelas 2 e 3 revelam que o procedimento analítico ora proposto reveste-se de suficientes precisão e exatidão para a determinação do fósforo em produtos cárneos, face aos baixos valores de erro padrão da média e desvio padrão rela-

tivo (DPR) ocorridos. Além disso, os valores médios de teor de fósforo obtidos pelos dois métodos não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância, quando analisados pelo teste t.

A pequena quantidade de produto cárneo proposta para incineração (0,2000 g) permite um máximo de utilização da capacidade forno. Por outro lado, os resíduos de incineração, quando insolúveis em ácido clorídrico, são também em pequena quantidade, dispensando filtração de material para obtenção do extrato.

Utilizando-se da curva padrão obtida, e considerando-se 0,2000 g a massa de produto cárneo originando 50 ml de extrato para análise, as porcentagens de fósforo, em termos de P, P₂O₅ ou PO₄³⁻ no material, serão dadas por:

$$\% P = \frac{(A - 0,019) \cdot 6,615}{V}$$

$$\% P_2O_5 = \frac{(A - 0,019) \cdot 15,16}{V}$$

$$\% PO_4^{3-} = \frac{(A - 0,019) \cdot 20,28}{V}$$

sendo A a absorvância da solução submetida à colorimetria, e V o volume tomado do extrato de 50 ml.

TABELA 4

Teor de fósforo nos diversos produtos cárneos analisados pelo método do ácido fosfovanadomolibdico proposto, expresso em porcentagens de P, P_2O_5 e PO_4^{3-} .

Amostra	Porcentagens de fósforo		
	como P	como P_2O_5	como PO_4^{3-}
Salsicha	0,33	0,76	1,01
Mortadela	0,54	1,24	1,65
Presunto	0,76	1,74	2,33
Presunto defumado	1,07	2,45	3,28
Rosbife	0,43	0,98	1,32

A tabela 4 mostra o teor de fósforo no peso seco dos diversos produtos cárneos analisados pelo método proposto, exprimindo-o em porcentagem de P, P_2O_5 e PO_4^{3-} .

Como a legislação brasileira de aditivos químicos em alimentos admite um máximo de 0,5% de "polifosfato" em tais produtos, verifica-se que todos apresentam concentração de fósforo superior ao permitido por lei, desde que a mesma se refira ao peso seco do material, expresso em termos de P_2O_5 ou de PO_4^{3-} .

CONCLUSÕES

A dosagem de fósforo total em produ-

tos cárneos pode ser efetuada pelo método do ácido fosfovanadomolibdico como ora proposto, tendo em vista que os resultados obtidos, quando comparados com aqueles oriundos da dosagem por método oficial, não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância. Por outro lado, a pequena quantidade de material utilizada simplifica operações normalmente requeridas quando quantidades maiores são empregadas.

O teor de fósforo encontrado nos diversos produtos mostrou-se sempre superior ao permitido por lei, quando expresso na forma de P_2O_5 ou PO_4^{3-} .

RIAL-A/418

GRANER, C.A.F.; MEIRA, D.R. & MUCCILOLO, P. — Determination of phosphorus in meat products. I. A method for phosphorus dosage. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 55-62, 1975/76.

SUMMARY: The authors propose a simple, quick, precise and accurate method for the meat products phosphorus determination by the molybdovanadophosphoric acid method.

The resulting data showed no statistical differences when compared with those obtained through the official method of the Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brazil, thus characterizing the proposed procedure as a suitable method to carry out routine analysis.

DESCRIPTORS: phosphorus determination in meat products; meat products, phosphorus determination; molybdovanadophosphoric acid to determine phosphorus in meat products.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BITTENCOURT, W.C. & ZAMBELLO JR., E. — Estudo comparativo dos métodos espectrofotométricos de extração com os álcoois isobutílico e amílico para a determinação do fósforo em solos tropicais. *Científica (Jaboticabal)*, 1: 89-100, 1974.
2. BOLTZ, D. F. & LUEK, C.H. — Phosphorus. In: BOLTZ, D.F., ed. *Colorimetric determination of nonmetals*. New York, Interscience Publishers, 1958. p. 29-46.
3. BOWLEY, M.J. — Spectrophotometric determination of phosphorus (V) oxide in cements and clinkers with molybdovanadate reagent. *Analyst (London)*, 98: 739-44, 1973.
4. BRAGA, J.M. & DeFELIPO, B.V. — Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solo e material vegetal. *Rev. Ceres (Viçosa)*, 21: 73-85, 1975.
5. BRASIL. Leis, decreto, etc. — Decreto n.º 55.871 — 26 mar. 1965. Modifica o Decreto n.º 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto n.º 691, de 13 de março de 1962. *Diário Oficial, da União, Brasília*, 9 abr. 1965. p. 3610-22.
6. DUFF, E.J. & STUART, J.L. — Determination of orthophosphate in the presence of nitrate ions. *Analyst (London)*, 96: 802-6, 1971.
7. GAVIRIA, O.V.; MORA, M.H.; GAMBOA, V.J.; GUERREIRO, R.R. — Evaluacion de metodos para la determinacion de fosforo aprovechable en suelos volcanicos de la zona andina del Departamento de Nariño. *Rev. Cienc. agr., Nariño*, 4: 55-64, 1972.
8. GOING, J.E. & EISENREICH, J.E. — Spectrophotometric studies of reduced molybdoantimonyphosphoric acid. *Analytica chim. Acta*, 70: 95-106, 1974.
9. GONZALEZ, O.C. & BÁEZ, C.M. — Método de determinación de fósforo en tejidos vegetales. *Agrochimica*, 16: 342-4, 1972.
10. KOENIG, R.A. & JOHNSON, C.R. — Colorimetric determination of phosphorus in biological materials. *Ind. Engng Chem. analyt. Edn.*, 14: 155-6, 1942.
11. KOZHUKHAROV, M.K. — A new variant of the photometric method of determining phosphoric acid as the blue phosphomolybdic heteropoly acid. *J. analyt. Chem. USSR*, 17: 389-90, 1962.
12. PELLEGRINO, D. *A determinação do fósforo pelo método do ácido fosfovanadomolibdico*. Piracicaba, 1960. [Tese — Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", U.S.P.].
13. QUINLAN, K.P. & DeSESA, M.A. — Spectrophotometric determination of phosphorus as molybdovanadophosphoric acid. *Analyst. Chem.*, 27: 1626-29, 1955.
14. SAO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. Vol. I. *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. São Paulo, [1967-]. 291 p.
15. SIMONSEN, D.G.; WERTMAN, M.; WESTOVER, L.M. & MEHL, J.W. — The determination of serum phosphate by the molybdivanadate method. *J. biol. Chem.*, 166: 747-55, 1946.
16. TULS, J. — Spectrophotometric determination of phosphorus in biological samples after dry ashing without fixatives. *Analyst (London)*, 97: 111-3, 1972.
17. WILLARD, H.H. & CENTER, E.J. — Colorimetric determination of phosphorus in iron ore. *Ind. Engng Chem. analyt. Edn.*, 13: 81-3, 1941.
18. WOODS, J.T. & MELLON, M.G. — The molybdenum blue reaction. A spectrophotometric study. *Ind. Engng Chem. analyt. Edn.*, 13: 760-4, 1941.

Recebido para publicação em 7 de agosto de 1975.

NÍVEIS DE IMUNOGLOBULINAS HUMANAS G, A e M EM SOROS DE RECÉM-NASCIDOS, CRIANÇAS E ADULTOS *

Josué M. OTSUKA **
Clara F. TACHIBANA **
Maricy Alves RIBEIRO **
Nair K. KAMEI **
Augusta K. TAKEDA **

RIAL-A/419

OTSUKA, J.M.; TACHIBANA, C.F.; RIBEIRO, M.A.; KAMEI, N.K. & TAKEDA, A.K. — Níveis de imunoglobulinas humanas G, A e M em soros de recém-nascidos, crianças e adultos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 63-66, 1975/76.

RESUMO: Foram determinadas as concentrações das diferentes classes de imunoglobulinas humanas G, A e M em soros de recém-nascidos e adultos da cidade de São Paulo, S.P., Brasil.

Os valores obtidos foram comparados com os de outros autores e submetidos a análise.

DESCRIPTORIOS: imunoglobulinas (G, A, M) humanas, determinação quantitativa.

INTRODUÇÃO

O interesse e a importância de conhecimento dos níveis das Imunoglobulinas Humanas estão diretamente ligados a uma série de condições patológicas, razão pela qual são encontrados numerosos trabalhos neste campo de investigação^{1,2,3,4,5,6,7,8}. Em nosso país os níveis normais destas proteínas foram primeiramente estabelecidos por GOMES³ que, em vista da inexistência destes dados entre nós, selecionou recém-nascidos, crianças e alguns adultos para seu estudo. Este autor concluiu que os níveis de imunoglobulinas séricas das crianças são

mais baixos, porém dentro dos limites apresentados pelos adultos.

Um estudo básico realizado por UFFELMAN *et alii*⁷, nos Estados Unidos, em crianças normais desde o nascimento até os doze anos de idade, além de estabelecer os níveis normais de proteínas séricas, salientou a necessidade de cada laboratório estabelecer os seus próprios níveis normais destas proteínas devido às possíveis variações ocorridas na metodologia empregada na determinação dos padrões, sujeitos às condições geográficas e ecológicas.

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

MATERIAL E MÉTODO

1. Amostras examinadas

Foram colhidos soros de 81 crianças, de recém-nascidos a 5 anos de idade, e soros de 27 adultos, de 18 a 35 anos, clínica e laboratorialmente normais, da cidade de São Paulo. A distribuição das faixas etárias consta na tabela 1.

O sangue foi colhido por punção venosa, o soro separado por centrifugação e guardado em congelador a -70°C até o momento de ser manipulado.

2. Determinação das imunoglobulinas

Na determinação das imunoglobulinas (Ig) foi utilizado o método de imunodifusão radial de MANCINI^{4,8}, com pequenas modificações:

- a) espessura da agarose* a 1% foi de 1 mm;
- b) orifícios com diâmetro de 2 mm;
- c) distância entre os orifícios: para IgG, 15 mm; para IgA, 20 mm e para IgM, 10 mm.

A leitura foi padronizada para 18 horas de incubação. Foram empregados anti-soros para determinação do teor das imunoglobulinas G, A e M, preparados em nosso laboratório e comparados com soros padronizados comerciais** disponíveis.

Estes anti-soros foram preparados em coelhos com imunoglobulinas extraídas de soros e urina de pacientes com macroglobulinemia e mieloma múltiplo e de colostros normais, por precipitação com sulfato de amônio a 33%, purificados por cromatografia em coluna (Sephadex G-200, para IgM; DEAE — Sephadex e DEAE—Celulose para IgG; CM — Celulose e TEAE—Celulose para IgA) e testados por imunoelectroforese. Os anti-soros específicos foram absorvidos e titulados por imunoprecipitação pela técnica de Ouchterlony.

TABELA 1

Distribuição de acordo com a faixa etária e o número de casos respectivos utilizados no experimento

Idade	Número de casos
Cordão umbelical	26
6 meses	8
1 ano	19
2 anos	18
4 anos	10
Adultos	27

A figura 1 na página seguinte mostra o aspecto da placa de reação de imunodifusão radial quantitativa.

As concentrações de imunoglobulinas das amostras são extrapoladas medindo-se o diâmetro dos halos de precipitação em milímetros, a partir da curva padrão.

Essa curva é construída colocando-se na abscissa os diâmetros relativos a padrões de concentrações conhecidas e na ordenada os logaritmos dessas concentrações.

* Agarose Sigma

** Hyland
Behring
D-D-Mérieux

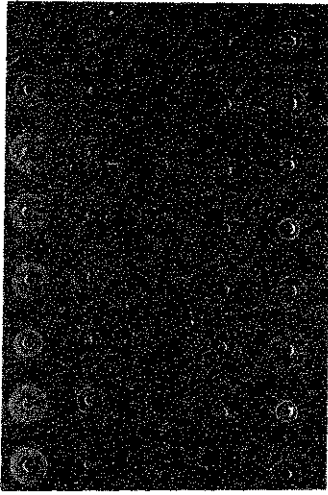


Fig. 1 — Aspecto da placa de reação de imunodifusão radial quantitativa.

RESULTADOS E CONCLUSÕES

Os valores médios obtidos das imunoglobulinas (G, A e M) em soros normais

de recém-nascidos, crianças e adultos estão na tabela 2.

De acordo com a tabela 2, verifica-se que os valores de IgG no recém-nascido situam-se na faixa idêntica à dos adultos. Já na faixa etária de 6 meses, foi encontrada uma nítida diminuição e, a partir de 1 ano, a concentração de IgG alcança valores idênticos aos encontrados em adultos.

Quanto à IgA, verifica-se que, nos recém-nascidos, praticamente não aparece, e a tendência é aumentar com a idade, atingindo níveis semelhantes aos de adultos a partir de 4 anos.

Quanto à IgM, os recém-nascidos apresentam valores relativamente altos apesar de que, dentre 26 casos, em 2 não foi detectada a presença de IgM. A tendência de IgM também é de aumentar de acordo com a progressão em idade da criança.

Do ponto de vista da relação entre essas diferentes classes de imunoglobulinas, ve-

TABELA 2

Teores médios de imunoglobulinas em soros humanos considerados normais desde recém-nascidos até adultos, comparados entre diversos autores

Faixas etárias	Autores	Imunoglobulinas (mg %)						
		I. A. L.*		Gomes ³	Buckley ²	Strjehm ⁵ Fudenberg ⁶	Uffelmann ⁷	Attenmith ¹
		SÃO PAULO						
Recém-Nascido	G	1.097 720 — 1700	1.458 1.118 — 1873	1.004 388 — 1.172	1.031 845 — 1.244	—	—	—
	A	4 0 — 60	—	< 5 0 — > 5	2 0 — 11	—	—	—
	M	30 6 — 96	19 12 — 27	9 6 — 15	11 5 — 30	—	—	—
6 Meses	G	854 400 — 1.440	667 141 — 1.193	381 228 — 638	427 206 — 1.126	556 190 — 860	—	—
	A	53 32 — 93	43 13 — 73	44 27 — 72	28 8 — 53	56 10 — 96	—	—
	M	76 58 — 120	103 30 — 176	38 28 — 50	43 10 — 83	70 25 — 120	—	—
1 Ano	G	1.200 780 — 1.800	1.066 317 — 1.815	640 383 — 1.070	661 279 — 1.533	721 350 — 1.180	760 420 — 1.290	—
	A	72 32 — 150	64 10 — 118	67 27 — 168	37 16 — 98	81 34 — 185	40 18 — 96	—
	M	109 84 — 206	136 84 — 218	56 28 — 113	54 22 — 141	76 38 — 104	84 30 — 188	—
2 Anos	G	1.325 640 — 2.200	1.062 539 — 1.585	708 423 — 1.184	762 258 — 1.393	705 320 — 1.080	830 490 — 1.390	—
	A	67 38 — 143	67 0 — 141	89 36 — 222	50 19 — 119	89 38 — 185	50 24 — 180	—
	M	120 60 — 360	140 34 — 246	65 32 — 131	58 14 — 114	85 72 — 160	84 38 — 200	—
4 Anos	G	1.702 900 — 4.000	—	906 542 — 1.515	929 569 — 1.397	1.028 840 — 1.440	920 550 — 1.490	—
	A	148 54 — 540	—	120 48 — 301	93 55 — 132	108 52 — 210	—	—
	M	133 72 — 240	—	41 20 — 82	56 22 — 100	121 52 — 200	92 36 — 234	—
Adulto	G	1.194 670 — 2.200	1.233 809 — 1.745	1.061 635 — 1.775	1.058 569 — 1.919	1.142 770 — 1.510	1.045 710 — 1.540	—
	A	182 58 — 340	206 78 — 386	266 106 — 668	200 61 — 330	210 134 — 297	170 60 — 490	—
	M	148 40 — 440	178 60 — 365	76 37 — 154	99 47 — 147	102 67 — 208	90 37 — 204	—

* I.A.L. = Instituto Adolfo Lutz

rifica-se que a relação $\frac{\text{IgG}}{16 \text{ IgA}}$ aos 6 meses de idade é $\frac{1}{1}$ e tende a diminuir uma vez que

o catabolismo de IgG de origem materna aumenta ao mesmo tempo em que a síntese de IgA pela criança vai aumentando até atingir os valores normais de adulto, cuja

proporção $\frac{\text{IgG}}{\text{IgA}}$ é $\frac{6,5}{1}$.

Quanto à relação $\frac{\text{IgA}}{\text{IgM}}$, verifica-se que

é 1 no recém-nascido e que esse valor tende a aumentar até que, a partir de 4 anos, torna-se maior que 1, como acontece com os adultos.

Da análise da tabela 2 resulta que os valores por nós encontrados estão muito mais próximos dos valores encontrados por Gomes do que dos encontrados por autores estrangeiros. A discrepância assinalada é bem mais acentuada desde os 6 meses até os 4 anos de idade, o que vem confirmar a necessidade de que sejam estabelecidos os níveis normais regionais.

RIAL-A/419

OTSUKA, J. M.; TACHIBANA, C. F.; RIBEIRO, M. A.; KAMEI, N. K. & TAKEDA, A. K. — G, A and M human immunoglobulin levels in sera from new-born, children and adults. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 63-66, 1975/76.

SUMMARY: The concentration of A, G and M immunoglobulins in sera from new-born, children and adults of São Paulo city, Brazil, was determined. The figures obtained were compared with those encountered by other authors, and submitted to an analysis.

DESCRIPTORS: human immunoglobulins (G, A, M), quantitative determination.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALLANSMITH, M.; MACLELLAN, B. H.; BUTTERWORTH, M. & MALONEY, J. R. — The development of immunoglobulin levels in man. *J. Pediat.*, 72: 276-90, 1968.
2. BUCKLEY, R. H.; DEES, S. C. & O'FALLON, W. M. — Serum immunoglobulins. I. Levels in normal children and uncomplicated childhood allergy. *J. Pediat.*, 41: 600-11, 1968.
3. GOMES, I. I. — *Estudo das proteínas séricas de crianças*. São Paulo, 1972. [Tese — Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo]
4. MANCINI, G.; CARBONARA, A. O. & HEREMANS, J. F. — Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry*, 2: 235-54, 1965.
5. SAMUAL, A. M.; DESHPANDE, U. R. & SINGH, B. — Immunoglobulins in normal adult indians. *Indian J. med. Res.*, 53: 56-63, 1970.
6. STIEHM, E. R. & FUDENBERG, H. H. — Serum levels of immunoglobulins in health and disease: a survey. *Pediatrics*, 37: 715-27, 1966.
7. UFFELMAN, J. A.; WARREN, E. E. & JOLLIFF, C. R. — Quantitation of immunoglobulins in normal children. *Clinica chim. Acta*, 28: 185-92, 1970.
8. WEIR, D. M. — *Handbook of experimental immunology*. 2nd ed. Oxford, Blackwell, 1973.

Recebido para publicação em 3 de setembro de 1975.

DISPLASIA DO COLO UTERINO E CARCINOMA *IN SITU* *

Evandro Pimenta de CAMPOS **

RIAL-A/420

CAMPOS, E.P. — Displasia do colo uterino e carcinoma *in situ*. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 35/36: 67-76, 1975/76.

RESUMO: O autor discute o problema da displasia do colo uterino de acordo com as várias escolas médicas, tentando esclarecer a aparente discordância no diagnóstico histopatológico; analisa também o carcinoma *in situ* e as suas implicações na orientação diagnóstica e terapêutica.

DESCRITORES: carcinoma *in situ* no colo uterino, histopatologia; colo uterino, carcinoma *in situ*; colo uterino, condições pré-cancerosas.

1. INTRODUÇÃO

Para que possamos ter uma idéia exata sobre displasia e câncer pré-invasivo do colo uterino, é necessário conhecer em suas linhas gerais como se apresenta o colo nas diferentes idades da mulher.

O colo do útero é a parte que aparece dentro da cavidade vaginal e que está recoberta por um epitélio plano-celular não corneificado, de várias camadas, com raras ou nenhuma papila, na área denominada ectocervix. O canal do colo uterino, denominado endocervix, possui um epitélio de camada única, cilíndrica, formada por células que produzem muco; esse epitélio penetra na intimidade do miométrio, formando glândulas ramificadas, de aspecto racemoso.

Trabalhos da escola alemã (Obert, 1958) demonstraram que o epitélio cervical plano-

celular recobre o colo até o orifício de entrada do canal cervical na jovem; nas mulheres na pós-menopausa e na velhice ele penetra no canal cervical. Na mulher, no período da vida sexual, a mucosa do canal cervical aflora ao exterior e recobre uma parte do colo uterino visível, constituindo a mancha avermelhada chamada eritroplasia, que nada mais é do que a erosão simples do colo uterino. Este conhecimento é muito importante pois, conforme a idade da mulher, varia o tipo de conização, nos casos de retirada da lesão suspeita.

O epitélio ectocervical tem tendência a invadir a área ocupada pela mucosa do canal cervical e, às vezes, recobrando-o, impede o livre escoamento de sua secreção, que fica retida e forma cistos (ovos de Naboth); outras vezes, esse epitélio substitui as células da endocervix, constituindo as chamadas metaplasias escamosas ou epi-

* Trabalho apresentado na Reunião Científica na Santa Casa de Misericórdia de Araçatuba, São Paulo, em 6 de outubro de 1973, comemorativa do 10.º aniversário do Laboratório I de Araçatuba da Divisão dos Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P.

** Do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo,

dermização das glândulas endocervicais, consideradas estados pré-cancerosos. O câncer do colo uterino, em 90% dos casos, inicia-se na zona de transição entre o epitélio ectocervical e endocervical, chamada zona de instabilidade epitelial de Hinzellmann.

A função do ginecologista, entre outras, não é mais a de diagnosticar precocemente um câncer do colo uterino, mas principalmente impedir o seu aparecimento, pelas medidas terapêuticas atualmente postas em prática; a colposcopia e as informações que lhe fornecem o citologista e o patologista ajudam-no nesta tarefa. Infelizmente, nos casos de câncer, o primeiro sinal que a mulher observa é o sangramento anormal do útero e, quando há sangramento, é porque há destruição do tecido; sendo feito o diagnóstico demasiadamente tarde, o prognóstico é mau.

O câncer do colo do útero é responsável por 75% dos casos de câncer genital feminino, e ao ginecologista compete precocemente constatar as primeiras alterações que se instalam no epitélio do colo uterino, onde se localizam 95% dos casos de câncer uterino; com o auxílio da colposcopia diagnosticam-se as lesões pré-cancerosas ou precursoras do câncer, como o carcinoma pré-invasivo e o carcinoma incipiente ou microcarcinoma. A citologia oncológica dá-nos o estado em que se encontram as células e a biópsia é que fornece o resultado final para a orientação do ginecologista. A biópsia feita com o auxílio da colposcopia permite mais exatidão na retirada da área suspeita — biópsia seletiva. Para bem se aquilatar do estado do epitélio do colo, é aconselhada a biópsia em quadrante, isto é, a retirada de fragmentos nos pontos correspondentes a 12, 3, 6 e 9 horas do mostrador de um relógio.

2. DISPLASIA DO COLO UTERINO E LESÕES PRÉ-CANCEROSAS

Ao patologista compete principalmente esclarecer o ginecologista sobre a existência de lesões pré-cancerosas no colo uterino, ou de um carcinoma *in situ*.

Sabemos que no câncer cervical clínico, isto é, naquele que já produz sinais clínicos, o diagnóstico é feito facilmente pelo ginecologista experimentado, pelo simples exame com o espéculo e pela palpação. Neste caso, o exame histopatológico da biópsia é apenas uma confirmação do diagnóstico clínico. Nos casos precoces, pré-clínicos, não há sinais clínicos precoces e as lesões passam despercebidas pela própria paciente; porém, já há alterações precoces reveladas pela histopatologia constituída por acentuada atipia celular no epitélio cervical e endocervical, que é o carcinoma *in situ*. Na atualidade, de 25 anos para cá, firmou-se o conceito de que o diagnóstico precoce do câncer do colo uterino se faz quando as alterações citológicas se localizam ainda e somente dentro do epitélio cervical, portanto antes de invadir o tecido conjuntivo irrigado, antes de produzir sintomas na mulher e antes que comece a invasão próximo ou longe do colo uterino. Dentro deste conceito, a colposcopia, o exame citológico, e a biópsia, complementando-se, são métodos de investigação para o diagnóstico precoce o qual somente o médico que se utiliza destes três métodos pode fazer.

Existe uma terminologia adequada para nos referirmos às alterações do epitélio do colo uterino, cuja significação devemos conhecer, em virtude de suas implicações com o carcinoma do colo do útero:

2.1 EPIDERMIZAÇÃO

É a substituição do epitélio não corneificado do colo uterino — ectocervix, por um epitélio corneificado, tomando a aparência de pele, frequente nos casos de prolapso uterino, quando o colo fica em contacto com o ar. É uma lesão benigna.

2.2 METAPLASIA

É a substituição focal ou difusa de epitélio muco-secretor da mucosa do canal cervical — endocervix, por um epitélio escamoso, epidermóide. Esta alteração é considerada lesão pré-cancerosa, aparecendo nos processos inflamatórios crônicos.

2.3 LEUCOPLASIA

É a presença de placas esbranquiçadas na superfície do colo, bem delimitadas, formadas por células sem glicogênio; por isto, o teste de Schiller mostra na área o tecido de cor avermelhada — Schiller positivo, em contraste com o restante do epitélio do colo, de coloração azulada — Schiller negativo.

O quadro histológico é representado por leuco-hiperqueratose, acantose e processo inflamatório na base do epitélio, variando de intensidade em cada caso. Não é considerada lesão pré-cancerosa.

2.4 DISPLASIA

Termo sugerido por William Obert do Instituto Nacional de Câncer de Bethesda, Md., E.U.A., para as alterações citológicas do epitélio de revestimento, principalmente das camadas profundas, constituídas por despolarização das células e atipia em diversos graus. Essas alterações, que vão desde um grau mínimo — *displasia leve*, *displasia moderada*, até um grau elevado — *displasia grave*, seriam indicativas, porém não conclusivas, de malignidade. O epitélio com alteração mais intensa, com um quadro histológico maligno, porém sem romper a membrana basal, é o carcinoma *in situ*, ou carcinoma pré-invasivo ou intra-epitelial.

Não há uma separação histológica nítida entre os três estádios mas ela se faz de maneira gradativa.

2.5 HIPERPLASIA E HIPERATIVIDADE DA CAMADA BASAL

As alterações celulares verificadas no epitélio do colo uterino estão comumente associadas a um aumento do número das camadas das células basais ou parabasais desse epitélio, isto é, uma proliferação anormal que não se diferencia regularmente para as camadas mais externas. Por outro lado, nessas camadas profundas aparecem células com caracteres das células superficiais, com acidofilia de citoplasma e alte-

rações nucleares, mostrando freqüentes figuras de mitose e processo inflamatório crônico junto à base, rico em linfócitos; trata-se de uma hiperatividade da camada basal, condicionando uma hiperplasia.

Há termos comumente usados pelos patologistas para diferenciar certas alterações também consideradas como estádios precursores do câncer do colo uterino, juntamente com os termos displasia e hiperplasia da camada basal, como metaplasia pré-cancerosa, hiperplasia atípica, epitélio atípico corneificado, epitélio atípico e inquietude epitelial, e lesão limiar. O importante é que o ginecologista seja informado da situação histológica do epitélio cervical que requer tratamento adequado, inclusive a conização.

2.6 ATIPIA CERVICAL

Procurando evitar confusões, a escola de Novak e colaboradores inclui todos os termos relativos ao grau de anormalidade do epitélio da *portio* na denominação *ATIPIA CERVICAL*, classificada em graus leve, moderado, acentuado, até o carcinoma *in situ*, que seria a forma mais acentuada da atipia.

a) *Atipia cervical leve* — Notam-se as células atípicas abrangendo de 1/4 a 1/3 das camadas mais profundas do epitélio cervical. Os processos inflamatórios crônicos comumente apresentam este quadro, principalmente na junção dos dois epitélios, isto é, ecto e endocervical. Raramente evoluem para carcinoma *in situ*. Esses casos devem ser controlados rotineiramente pelos exames citológico e histopatológico.

b) *Atipia cervical moderada* — Apresenta as células atípicas abrangendo 1/2 a 3/4 da espessura do epitélio cervical. Encontramos maturação atípica, hiperplasia das células da camada basal, perda de polaridade e desarranjo das células, principalmente na camada basal. A atipia é constituída pela presença de células queratinizadas e não queratinizadas, grandes ou pequenas. A anaplasia celular e a presença de pérolas córneas na intimidade do epitélio pode sugerir tendência à transformação maligna.

c) *Atipia cervical acentuada* — Neste caso, a atipia celular atinge a mais de 3/4 da espessura do epitélio cervical; nota-se maturação irregular em grande extensão e as alterações citadas na atipia moderada são mais acentuadas, notando-se presença de células queratinizadas, núcleos múltiplos e nucléolos evidentes, variações de aspecto da cromatina. A perda da estratificação e da polarização das células nas camadas profundas pode ser acompanhada de microinvasão do estroma; há casos de carcinoma invasivo que se inicia nessas camadas profundas, sem alterações evidentes nas camadas superficiais, cujas células são recolhidas para o exame citológico, podendo dar um resultado falso negativo, para células malignas. O seguimento desses pacientes tem mostrado o desenvolvimento de um carcinoma *in situ* ou mesmo sua existência concomitante.

d) *Importância do diagnóstico das atipias cervicais* — Nos casos de atipia moderada, geralmente há regressão do quadro, enquanto nas atipias acentuadas cerca de 2/3 dos casos se transforma em carcinoma *in situ*. Nestes casos, há necessidade de exame colposcópico, citológico e histológico para surpreender a lesão maligna. O carcinoma *in situ* pode estar associado a um carcinoma invasivo, devendo os cortes ser feitos em vários pontos, para esclarecimento.

As infecções por tricomonas e fungos podem ocasionar atipia celular, caracterizada pela chamada discariose, o que poderia sugerir uma aparente transformação em carcinoma *in situ*, mas, realmente, isso não acontece. O uso de podofilina tem produzido também atipia celular, porém, sem transformação maligna.

e) *Lesão limítar* — Termo empregado por Koss e Graham, preferido por patologista com grande experiência em patologia cervical, do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo⁶, define as alterações do epitélio cervical, que podem ou não evoluir para malignidade. O estudo escalonado do colo uterino deve ser feito para afastar a hipótese de

lesão maligna. Os cortes em série devem ser feitos obrigatoriamente. Não é raro serem encontradas, num mesmo fragmento de colo, lesões que vão desde a hiperplasia da camada basal até o carcinoma *in situ*.

3. CARCINOMA *IN SITU*

a) *Conceito* — O carcinoma *in situ* ou carcinoma intraepitelial ou ainda carcinoma pré-invasivo é uma lesão constituída por um agrupamento de células com todas as características histológicas de um carcinoma, localizado na intimidade ou na espessura de um epitélio de revestimento, substituindo uma área do epitélio preexistente, com uma característica importante que é o não rompimento da membrana basal desse epitélio. Qualquer epitélio, pois, pode ser a sede de um carcinoma *in situ*, porém, é no epitélio cervical a sua mais importante localização, não só pela frequência, como também pelo fato de que, feito o diagnóstico e tomadas as medidas terapêuticas indicadas, livra-se a mulher de um possível futuro câncer do colo uterino. O carcinoma *in situ* pode desenvolver-se ou propagar-se nas glândulas do canal cervical, porém respeitando sempre a membrana basal e, neste caso, não deve ser confundido com o carcinoma invasivo. Os diferentes tipos de anaplasia celular, falta de diferenciação, constituindo os três tipos principais da atipia cervical, segundo Novak, podem ser lesões precursoras de carcinoma *in situ*. Essa lesão também pode aparecer em casos de erosão congênita da *portio*, em virgens e múltiparas. A maior incidência é entre 25 e 50 anos, idade média de 38 anos. Temos em nossos arquivos de biópsia um caso de carcinoma *in situ* em múltipara de 19 anos. É relativamente frequente o aparecimento de carcinoma *in situ* em mulheres grávidas, que não regride após o parto. O exame ginecológico rotineiro, a simples inspeção e o toque não permitem o diagnóstico de carcinoma *in situ*. Com o auxílio da colposcopia, a lesão pode ser suspeitada, sendo positivo o teste de Schiller nessa área. Nos casos em que a lesão se encontra unicamente nas camadas mais profundas do epitélio, somente pela citologia oncô-

tica — método de Papanicolaou, se pode detectar a lesão.

O exame histopatológico da biópsia vem confirmar ou não a suspeita de carcinoma *in situ* ou de carcinoma pré-clínico — aquele cuja invasão é apenas inicial, o microcarcinoma.

b) *Histopatologia* — o quadro histopatológico é o de um verdadeiro carcinoma, ao qual somente falta o caráter invasivo do estroma; ele tem uma localização exclusivamente intraepitelial, respeitando sempre a membrana basal, independentemente de extensão da lesão, seja única ou múltipla. A atipia celular ou anaplasia celular resumidamente é caracterizada pelas anomalias nucleares e celulares. As *anomalias nucleares* são caracterizadas pela alteração da relação núcleo-citoplasmática, macrocarioris, núcleos exageradamente grande em relação à célula, e polimorfismo celular; presença de nucléolos múltiplos e gigantes, hiperromatismo nuclear e presença de mitoses normais, atípicas e abortivas; a membrana nuclear é exageradamente corada e denteada ou com irregularidades. As *anomalias celulares* são caracterizadas pelo alto grau de atipia celular, grande multiplicação de células com polimorfismo celular, citoplasma escasso dando a impressão de que os núcleos das células estão próximos, desaparecimento das pontes intercelulares e perda da estratificação epitelial. Não há invasão do tecido conjuntivo subjacente, respeitando a membrana basal. O carcinoma *in situ* é um carcinoma verdadeiro, porém, em seu *período inicial* e, em geral, com longo *período de latência*. Este período de latência varia de 2 a 10, 15 ou mais anos para que o carcinoma se transforme em câncer invasivo e depende de diversos fatores individuais. Cerca de 25% dos casos, em 5 anos se transforma em câncer invasivo, e 50% dos casos, em 10 anos.

Hoje nem todos aceitam a regressão espontânea. Todavia, há quadros histopatológicos representados por alterações regressivas das células basais do epitélio, com características malignas, presença de intenso infiltrado linfoplasmocitário e vários corpúsculos de Russel, sugerindo regressão

da lesão por reação imunitária do organismo. Portanto, o diagnóstico precoce deve ser feito para que a mulher se livre de um possível câncer invasivo, com pequena probabilidade de cura, se diagnosticado tardiamente, enquanto que, na fase pré-invasiva, atinge 100% de cura.

c) *Localização* — Cerca de 90% ou mais dos casos de carcinoma *in situ* do colo uterino se localiza na *zona de transição*, entre o epitélio ectocervical — epitélio escamoso — e o epitélio endocervical — epitélio mucoso ou colunar. Existe uma luta constante entre estes dois epitélios e é nessa zona de *instabilidade celular* que se verifica a maior percentagem dos casos; essa zona varia de local de acordo com a idade da mulher, conforme os esquemas que foram analisados anteriormente; daí a importância do tipo de conização. A extensão da lesão varia de 0,05 a 3,5 cm.

3.1 RELAÇÃO ENTRE CARCINOMA *in situ* E CARCINOMA DO COLO UTERINO

A comprovação de que um carcinoma *in situ* antecede sempre um carcinoma invasivo é difícil pois, uma vez diagnosticado, o carcinoma *in situ* é retirado pela biópsia ou pela cirurgia e não podemos saber como evoluiria. Todavia, existem 8 evidentes circunstâncias em que o carcinoma *in situ* é forma pré-invasiva de carcinoma escamoso (plano-celular), que são as seguintes:

a) *Incidência* — É aproximadamente semelhante a incidência de carcinoma *in situ* e a de carcinoma invasivo em determinado grupo populacional. Em Nova York, E.U.A., por exemplo, a média encontrada do primeiro é de 0,053% e do segundo 0,034% nas mulheres examinadas.

b) *Fator idade* — Grandes grupos de pacientes, com carcinoma *in situ*, com a idade média de 38 anos, apresentam posteriormente carcinoma invasivo, isto é, na idade média de 50 anos, decorrendo, portanto, em média, 12 anos na evolução de uma doença para a outra.

c) *Ocorrência racial* — A incidência de carcinoma *in situ* e de carcinoma invasivo nas mulheres brancas é praticamente a mesma, sendo que, nas de raça judia, o índice é levemente menor; já nas mulheres de raça negra a ocorrência de carcinoma *in situ* e de carcinoma invasivo é de duas vezes mais do que nas de raça branca.

d) *Transformação de carcinoma in situ em carcinoma invasivo* — O estudo feito na Dinamarca de casos anteriormente diagnosticados como de carcinoma *in situ*, cujo tratamento foi suspenso, demonstraram a presença de carcinoma invasivo após 5 a 12 anos, em 26% dos casos. Por outro lado, em cerca de 50 casos de carcinoma invasivo, nos quais foi analisado o passado dos pacientes, havia diagnóstico antigo de carcinoma *in situ*. Nestes casos, porém, não se tem a segurança de que naquela ocasião não havia uma lesão inicial invasiva.

e) *Carcinoma in situ aparente, com invasão inicial — microinvasão* — Em cerca de 5 a 26% dos casos de carcinoma *in situ* que foram estudados minuciosamente em cortes em série, encontra-se invasão inicial — microcarcinoma, mas nem sempre é possível fazer cortes em série do colo uterino. Estes casos têm também um bom prognóstico, como o carcinoma *in situ*.

f) *Carcinoma invasivo com lesões de carcinoma in situ* — Há casos em que o carcinoma invasivo tem mostrado em sua vizinhança lesões pré-invasivas, as quais vão ser destruídas pelo tumor invasivo durante o seu crescimento. Este fato obriga o ginecologista e o patologista a procurar sempre um ponto de invasão, nos casos de carcinoma *in situ*.

g) *Comportamento em relação à absorção da luz ultravioleta* — Tanto o carcinoma *in situ* como o carcinoma invasivo reagem identicamente à microscopia de fluorescência.

h) *Concordância entre os resultados verificados nos exames citológico e histopatológico em casos de carcinoma in situ e carcinoma invasivo* — Há concordância nos resultados destes exames, em cerca de 90% dos casos.

3.2 GRAVIDEZ E PUERPÉRIO, E CARCINOMA *in situ*

Durante a gravidez, podem ser encontradas no epitélio de revestimento da *portio* células com discariose, isto é, alterações do núcleo, constituídas por hiper cromatismo, núcleos gigantes, halo perinuclear, porém conservada a estratificação do epitélio, que devem ser diferenciadas das de carcinoma *in situ*.

Não há prova evidente de que o carcinoma *in situ* regride no puerpério mas, durante a gravidez, não seria indicada uma intervenção cirúrgica de emergência; a paciente deve ser mantida em constante observação. Na opinião atual, apesar do estado colóide do colo na gravidez, é indicada a cirurgia.

3.3 CONDUTA TERAPÊUTICA NO CARCINOMA *in situ*

O método mais comumente usado é a histerectomia total, com extirpação do bordele vaginal, variando é claro a conduta em cada caso, quando não mais se visa a função reprodutora. Nas pacientes nas quais deve permanecer a função reprodutora, faz-se a conização seguida de cuidadosos exames.

3.4 DISCUSSÃO ETIOLÓGICA DAS ALTERAÇÕES MALIGNAS DO COLO DO ÚTERO

Finalmente, quanto à etiologia das alterações malignas do colo uterino, o câncer do colo uterino foi tema discutido em recente simpósio internacional realizado em Barcelona, Espanha, de 21 a 23 de junho de 1973, tendo sido dada muita importância à infecção pelo vírus de herpes genital.

Narb, em 1966, foi o primeiro a constatar 4 casos de câncer do colo uterino, nos quais estava presente essa infecção viral.

O exame citológico de células obtidas de casos de câncer do colo uterino tem

dados reações positivas com o antígeno do vírus *herpes hominis*, tipo 2. Estudos experimentais têm conseguido induzir a transformação maligna de células normais pela presença desse vírus. As reações imunológicas com soro de animais (macaco *cebus*) são positivas nos casos produzidos com o mesmo tipo de vírus.

Apesar dos fatos comprovados e da evidência de que o vírus *herpes hominis*, tipo 2, pode produzir o câncer do colo uterino, existem fatores individuais, hereditários e imunológicos que influem no seu aparecimento e, nestes casos, estes vírus teriam causas coadjuvantes no aparecimento do câncer.

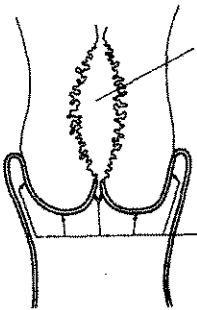


Fig. 1 — Colo uterino, esquema clássico segundo W. PSCHYREMBEL⁹.

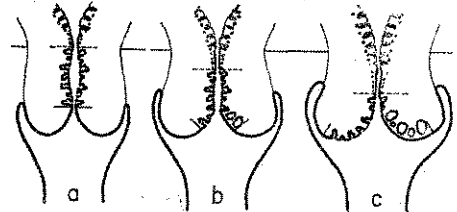


Fig. 2 — Colo uterino da mulher jovem (a) e da mulher madura sexualmente (b e c), segundo W. PSCHYREMBEL⁹.

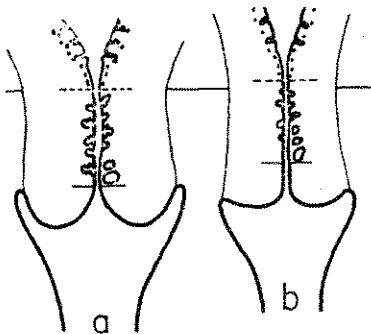


Fig. 3 — Colo uterino da mulher na pós-menopausa (a) e na senectude (b), segundo W. PSCHYREMBEL⁹.

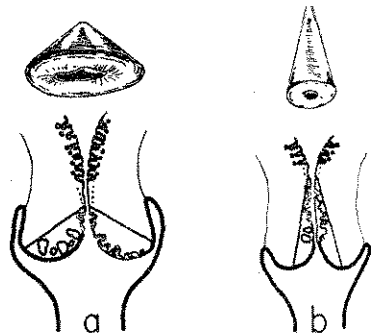


Fig. 4 — Conização na idade da procriação (a) e no climatério (b), em pacientes com carcinoma *in situ*, segundo W. PSCHYREMBEL⁹.

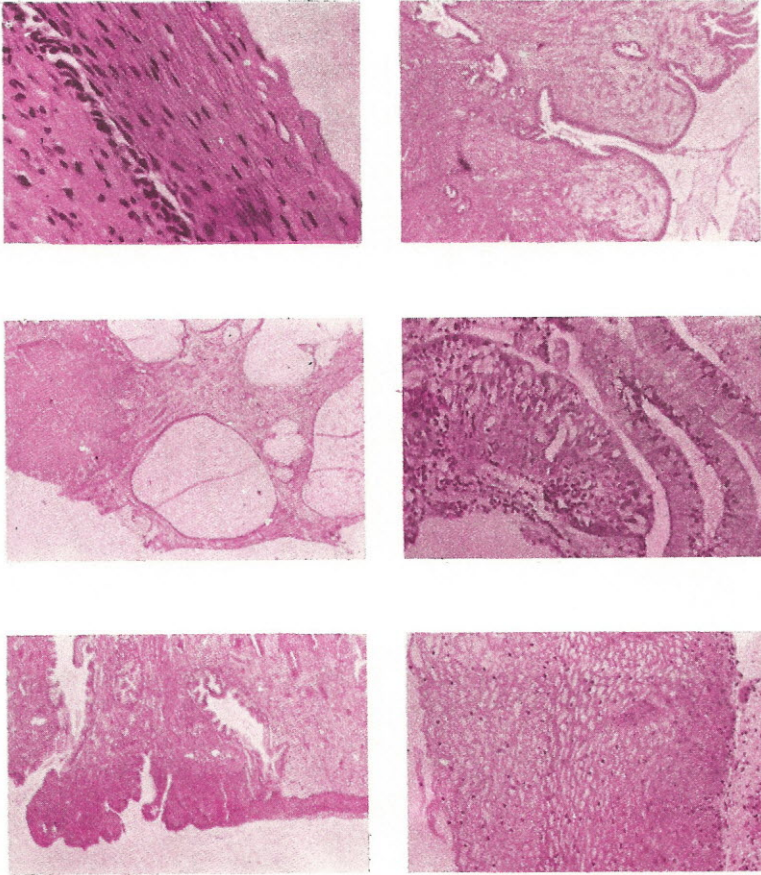


Fig. 5 — Ectocervix — revestimento epitelial plano-celular em várias camadas, não corneificado. H. eosina (I.A.L.).

Fig. 6 — Endocervix — revestimento epitelial em camada única, células cilíndricas produtoras de muco por formação de glândulas ramificadas. H. eosina (I.A.L.).

Fig. 7 — Colo uterino — cistos ou ovos de Naboth. H. eosina (I.A.L.).

Fig. 8 — Metaplasia escamosa de glândula endocervical. H. eosina (I.A.L.).

Fig. 9 — Zona de instabilidade de Hinzellmann com atipia celular. H. eosina (I.A.L.).

Fig. 10 — Atipia cervical leve. H. eosina (I.A.L.).

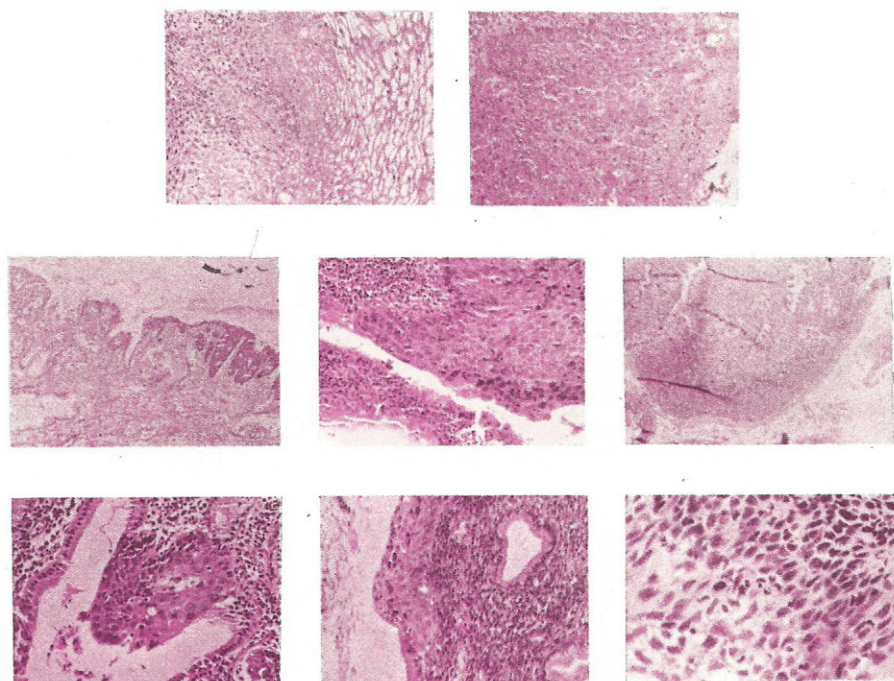


Fig. 11 — Atipia cervical moderada. H. eosina (I.A.L.).

Fig. 12 — Atipia cervical grave. H. eosina (I.A.L.).

Fig. 13 — Carcinoma *in situ* — zona de transição de Hinzellmann. H. eosina (I.A.L. C-34074).

Fig. 14 — Ampliação da figura 13, mostrando a zona de Hinzellmann.

Fig. 15 — Carcinoma *in situ* — extensão de lesão. H. eosina. (I.A.L. C-20385).

Fig. 16 — Carcinoma *in situ* em glândula endocervical. H. eosina. (I.A.L. C-34074).

Fig. 17 — Carcinoma *in situ*, substituindo o epitélio endocervical. H. eosina. (I.A.L. C-20385).

Fig. 18 — Ampliação da figura 17, mostrando a lesão em detalhe.

Agradecimentos

Ao Sr. Justino da Silva, da Seção de

Fotomicrografia do Instituto Adolfo Lutz, pelo trabalho fotográfico, os nossos agradecimentos.

RIAL-A/420

CAMPOS, E.P. — Cervix uteri dysplasia and carcinoma *in situ*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 67-76, 1975/76.

SUMMARY: The author reviews the current knowledge on dysplasia of the uterus neck, in the light of its microscopic diagnosis. He also examines critically the pathology of the carcinoma *in situ* and its implications on treatment.

DESCRIPTORS: carcinoma *in situ* in the cervix uteri, histopathology; cervix uteri, carcinoma *in situ*; cervix uteri, precancerous conditions.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSON, W.A.D., ed. — *Pathology*. 4th ed. St. Louis, Mosby, 1961. 1389 p.
2. DURÁN-REYNALS International Symposium, 2nd, Barcelona, 1973. Viral replication and cancer. *Proceedings*. [Barcelona] Labor [1973] 289 p.
3. FARIA, J.L. — *Anatomia patológica*. [s.l.] Unicamp, 1971. v. 1, 213 p.
4. FERREIRA, C.A. — *Colpocitologia e demais citodiagnósticos em ginecologia*. 2.^a ed. rev. e ampl. [Rio de Janeiro, s.l.p.] 1962. 324 p.
5. KERN, G. — *Preinvasive carcinoma of the cervix: theory and practice*. Translated by Ralph M. Winn. Berlin, Springer-Verlag, 1968. [original alemão]
6. LIMA, M.L.M.T. — *Carcinoma pré-invasivo do colo do útero: estudo histopatológico*. [s.l.] 1963 [Tese Livr. doc. — Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo]
7. NOVAK, E. & WOODRUFF, J.D. — *Gynecologic and obstetric pathology*. 6th ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 1967.
8. PAPANICOLAOU, G.N. — *Atlas of exfoliative cytology*. Cambridge, Mass., Harvard Univ., 1963. 438 p.
9. PSCHYREMBEL, W. — *Ginecologia practica*. Traducción directa del alemán por F. Ruiz Torres. Madrid, Alhambra, 1969.

Recebido para publicação em 16 de setembro de 1975.

MODIFICAÇÃO DO MÉTODO TRICRÔMICO DE MASSON PARA COLORAÇÃO DE TECIDOS *

Evandro Pimenta de CAMPOS **
Antonio James BRANDI **
Adriana Manginelli MASSIGNANI **
Nilza BAPTISTA **
José Carlos ARMINANTE ***

RIAL-A/421

CAMPOS, E.P.; BRANDI, A.J.; MASSIGNANI, A.M.; BAPTISTA, N. & ARMINANTE, J.C. — Modificação do método tricrômico de Masson para coloração de tecidos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 77-80, 1975/76.

RESUMO: Os autores modificaram o método clássico de Masson para coloração de tecidos, eliminando algumas drogas de difícil aquisição no mercado interno, substituindo-as por outras mais facilmente encontradas. Na conclusão do trabalho, verificaram a exequibilidade do estudo proposto, obtendo uma modificação vantajosa no método, quanto à diminuição no tempo da execução, maior nitidez nas preparações histológicas e facilidade de aquisição das drogas. O Ponceau 2R foi substituído pelo Ponceau 3R, a hematoxilina de Regaud pela hematoxilina de Harris, com conseqüente eliminação do alúmen de ferro, do ácido pícrico, e não utilização do aquecimento.

DESCRITORES: Masson, modificação do método para coloração de tecido; coloração de tecido; histopatologia, coloração de tecido.

I N T R O D U Ç Ã O

Em virtude da constante dificuldade de aquisição de determinadas drogas importadas, propuzemo-nos a modificar o método clássico de Masson, para coloração de tecidos, eliminando alguns reativos e acrescentando outros de mais fácil aquisição em nosso meio. Para tanto, foram revistas as

técnicas usuais^{1, 2, 3, 4, 5, 6}. Estas modificações introduzidas não alteraram a característica tintorial dos tecidos.

MATERIAL

O material empregado neste estudo é constituído por fragmentos de tecidos diversos — pele, fígado, coração e tumores

* Realizado na Seção de Anatomia Patológica do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Do Instituto Adolfo Lutz (falecido).

retirados durante necrópsias realizadas na Divisão de Patologia do Instituto Adolfo Lutz e de biópsias de várias procedências.

MÉTODO

Reagentes empregados

Fixadores

Formol a 10%
mistura de formol a 40% em água destilada (10:90) v/v

Bouin

Solução aquosa saturada de ácido pícrico 75,0 ml
Formol a 40% (v/v) 25,0 ml
Ácido acético glacial 5,0 ml

Corantes

Hematoxilina de Harris

Ponceau 3R

Fucsina ácida 0,3 g
Ponceau 3R 0,7 g
Água destilada 100 ml
Ácido acético glacial 1,0 ml

Azul de anilina

Azul de anilina solúvel em água 2,5 g
Água destilada 100 ml
Ácido acético glacial 2,0 ml

Nota: existem no comércio duas qualidades de azul de anilina; uma, solúvel em etanol e outra solúvel em água. Esta última é a que utilizamos em nosso trabalho.

Todas as soluções corantes mencionadas acima devem ser filtradas em papel de filtro.

Soluções diversas

Álcool ácido

Álcool a 70% 99,0 ml
Ácido clorídrico concentrado 1,0 ml
Ácido fosfomolibdico
Ácido fosfomolibdico 1,0 g
Água destilada 100 ml

Filtrar na hora de usar.

Ácido acético

Ácido acético glacial 1,0 ml
Água destilada 100 ml

TÉCNICA DE COLORAÇÃO

1. Xilol 5 min
2. Xilol 5 min
3. Álcool absoluto 5 min
4. Álcool a 95% 5 min
5. Lavar em água de torneira 1 min
6. Hematoxilina de Harris 5 min
7. Lavar em água corrente 1 min
8. Limpar a lâmina.
9. Diferenciar a lâmina em álcool-ácido (dois mergulhos rápidos).
10. Lavar a lâmina em água corrente da torneira 10 min
11. Corar a lâmina no Ponceau 3R 5 min
12. Lavar muito bem a lâmina em água destilada.
13. Diferenciar a lâmina e mordencá-la em ácido fosfomolibdico . 5 min
14. Colocar sobre a lâmina a solução azul de anilina 5 min
15. Lavar a lâmina muito bem em água destilada.
16. Colocar sobre a lâmina ácido fosfomolibdico 5 min
17. Colocar sobre a lâmina ácido acético glacial 5 min
18. Passar a lâmina em dois álcoois absolutos.
19. Enxugar bem a lâmina em papel de filtro com o corte voltado para baixo.
20. Xilol 2 min
21. Xilol 2 min
22. Montar em bálsamo do Canadá sintético dissolvido em toluol.

Para bom êxito desta coloração, as soluções e os corantes não devem ser reaproveitados; aconselhamos, portanto, que os mesmos sejam colocados sobre as lâminas.

RESULTADOS

Os núcleos apresentaram-se de cor azul arroxeado; o citoplasma, queratina, fibras musculares e fibras intercelulares, vermelho; colágeno e muco, azul.

CONCLUSÕES

Nesta coloração omitimos a mordenzagem pelo alúmen de ferro a 5%, substituímos a hematoxilina de Regaud^{2,3} e de Weigert⁴ pela hematoxilina de Harris, suprimimos a diferenciação pelo ácido pícrico alcoólico^{2,3,5,6}, substituímos o Ponceau de xilidíne ou Ponceau 2R^{2,3,5,6} pelo Ponceau 3R.

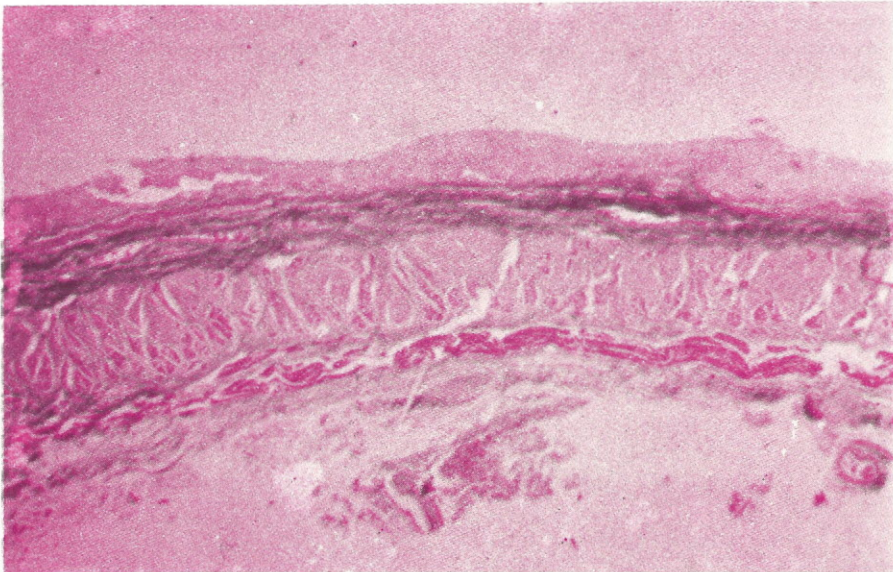
No decorrer da coloração notamos que o ácido fosfomolibdico necessita ser filtrado para que a lâmina se apresente nítida;

ele funciona não só como diferenciador do Ponceau, mas também como mordente do azul de anilina^{1,6}.

Introduzindo-se as modificações por nós descritas, obtêm-se as seguintes vantagens:

- a) evita-se o uso de drogas obsoletas;
- b) encurta-se o tempo de coloração;
- c) usa-se uma hematoxilina de fácil preparação e manuseio, a hematoxilina de Harris;
- d) usa-se o Ponceau 3R mais facilmente encontrado no comércio e que evidencia melhor as fibras.

As lâminas apresentaram-se bem nítidas destacando-se bem o citoplasma, a queratina, as fibras musculares e as fibras intercelulares, em vermelho bem intenso; o colágeno e muco, em azul bem forte e os núcleos, em um anzol arroxeado.



Corte de esôfago corado pelo método tricrômico de Masson modificado. Fibras musculares, coradas em vermelho; tecido conjuntivo, em azul; núcleos, em azul arroxeado.

RIAL-A/421

CAMPOS, E.P.; BRANDI, A.J.; MASSAGNANI, A.M.; BAPTISTA, N. & ARMINANTE, J.C. — Modification to the trichromic method of Masson for tissue staining. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 77-80, 1975/76.

SUMMARY: The classical trichromic method of Masson for differential staining of tissue elements was simplified by substitution of Ponceau 2R for Ponceau 3R and substitution of Harris'hematoxylin for Regaud's hematoxylin. Use of picrid acid, iron alumen and heating of solution's reagent was spared. The time spent in staining was appreciably reduced and appearance of tissue structures was improved. Repeated testing showed that the modifications proposed are feasible.

DESCRIPTORS: Masson's method for tissue staining, modification; staining, tissue; histopathology, tissue staining.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COSTA, A.C. & CHAVES, P.R. — *Manual de técnica histológica*. 3.^a ed. Lisboa, Livr. Portugália, 1943. p. 206.
2. COWDRY, E.V. — *Laboratory technique in biology and medicine*. 2nd ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1943. p. 146-7.
3. DAVENPORT, A.H. — *Histological and histochemical technics*. Philadelphia, Saunders [c1960]. p. 245-6.
4. ESTADOS UNIDOS. Armed Forces Institute of Pathology. *Manual of histologic and special staining technics*. Washington D.C., 1957. p. 67-8.
5. HUMASON, G.L. — *Animal tissue techniques*. San Francisco, W.H. Freeman [c1962]. p. 152-3.
6. LILLIE, R.D. — *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3th ed. New York, McGraw-Hill [c1935]. p. 545-6.

Recebido para publicação em 25 de setembro de 1975.

CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA DE ÁCIDOS GRAXOS DE MANTEIGA DE CACAU DO BRASIL *

Maria Elisa Wohlers de ALMEIDA **
Clara NAKANO **
Elza Gastaldo BADOLATO **

RIAL-A/422

ALMEIDA, M.E.W.; NAKANO, C. & BADOLATO, E.G. — Cromatografia em fase gasosa de ácidos graxos de manteiga de cacau do Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 81-89, 1975/76.

RESUMO: Para a verificação do padrão de qualidade da manteiga de cacau produzida no Brasil, foram feitas as seguintes determinações: índice de acidez, índice de refração, índice de iodo, ponto de fusão, substâncias voláteis, substâncias insaponificáveis e prova de rancidez. Foi, também, determinada a composição de ácidos graxos.

Foi feita uma adaptação no processo de metilação por transesterificação em ampola com metilato de sódio.

Os ésteres metílicos foram analisados por cromatografia em fase gasosa com detector de ionização de chama. Foram identificados e dosados os ácidos láurico, mirístico, palmítico, palmitoléico, esteárico, oléico, linoléico, araquídico, linolênico e behênico. Foi ainda detectado um ácido graxo saturado com 17 átomos de carbono.

DESCRIPTORIOS: ácidos graxos em manteiga de cacau, determinação por cromatografia em fase gasosa; manteiga de cacau, determinação de ácidos graxos por cromatografia em fase gasosa.

I N T R O D U Ç Ã O

A manteiga de cacau constitui a fração lipídica das sementes do cacaueiro (*Theobroma cacao*). Estas sementes, após retiradas de seus frutos, sofrem um processo de fermentação e depois são submetidas à secagem nos próprios locais de cultivo. Os processos de torrefação, moagem e extra-

ção da manteiga de cacau são executados nas fábricas de chocolate.

O desenvolvimento do odor e sabor característicos do chocolate ocorre durante as fases de fermentação e torrefação.

A manteiga de cacau é normalmente obtida por prensagem, mas pode, também,

* Realizado na Divisão de Bromatologia e Química do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P. Apresentado à 27.^a Reunião da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, realizada em Belo Horizonte, M.G., de 9 a 16 de julho de 1975.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

ser extraída por meio de solventes adequados como hexano e tricloroetileno.

No processo de manufaturação do cacau em pó, parte da manteiga de cacau é removida; já na tecnologia do preparo de chocolate, estes lipídios são novamente adicionados.

A primeira parte de nosso trabalho consistiu em verificar o padrão de qualidade da manteiga de cacau empregada no preparo de chocolate em diferentes fábricas de São Paulo.

A segunda parte visou a identificação e determinação dos ácidos graxos da manteiga de cacau produzida no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Analisamos 13 amostras de manteiga de cacau, sendo que 11 foram fornecidas por indústrias de chocolate, indústrias estas por nós consideradas idôneas; duas amostras foram por nós extraídas no laboratório a partir de semente de cacau. Todas as sementes empregadas na extração da manteiga de cacau eram provenientes do Estado da Bahia.

Para verificarmos o padrão de qualidade e o grau de pureza determinamos diferentes índices, de acordo com os processos indicados nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz⁴: ponto de fusão, índice de refração a 40°C, índice de acidez, índice de saponificação e índice de iodo (Hübl). Além destas constantes físico-químicas determinamos, também, substâncias voláteis e matéria insaponificável, esta última de acordo com A.O.A.C.¹, como também foi verificada a rancidez das amostras por meio da reação de Kreiss.

A análise por cromatografia em fase gasosa dos ácidos graxos de óleos e gorduras exige, previamente, a transformação dos glicéridos em ésteres metílicos.

No início do trabalho, efetuamos a preparação dos ésteres metílicos dos ácidos graxos (4 amostras) de acordo com o pro-

cesso recomendado pela Organização Internacional do Cacau e Chocolate⁸. Este processo é baseado na esterificação dos ácidos graxos com metanol, após saponificação, usando como catalisador trifluoreto de boro (BF₃).

Entretanto, como tivéssemos dificuldade em adquirir o reagente trifluoreto de boro, empregamos para a metilação o processo de transesterificação em ampola indicado por DE FRANCESCO & MAGLITTO⁵, para óleos, sendo por nós introduzidas algumas modificações necessárias para o caso de manteiga de cacau. Em ambos os processos de metilação, os resultados obtidos foram idênticos.

Método de transesterificação em ampola

Transfira cerca de 1 g da amostra para uma ampola de vidro e adicione 2 ml de metilato de sódio (sódio metálico em álcool metílico a 1,5%). Feche a ampola com o maçarico tomando cuidado para não haver vasamento. Aqueça em banho-maria fervente, por 2 horas. Abra a ampola e transfira o conteúdo para um funil de separação de 125 ml, com auxílio de uma solução saturada de cloreto de sódio, quente. Adicione 10 ml de álcool etílico, agite e espere a separação das camadas (se houver formação de emulsão, adicione mais 5 ml de álcool). Despreze a camada inferior aquosa e recolha a superior onde estão dissolvidos os ácidos graxos metilados.

Para a análise dos ésteres metílicos assim obtidos foi usado um cromatógrafo a gás da marca Varian, modelo 1400, com detector de ionização de chama.

Os componentes foram separados em uma coluna de 6 pés de comprimento e 1/8 de polegada de diâmetro interno, tendo como fase estacionária succinato de dietileno glicol (DEGS) a 10% em Cromosorb W, como suporte sólido. Foram observadas as seguintes condições de operação: temperatura do injetor, 220°C; temperatura do detector, 220°C; temperatura da coluna, programada de 150 a 200°C, $\beta = 4^\circ\text{C}/\text{min}$; gás de arraste, nitrogênio; fluxo, 30 ml/min; sensibilidade, 1×10^{-10} e 32×10^{-10} .

Identificação dos componentes

Para a análise qualitativa foi injetado no cromatógrafo 1 μ l da solução dos ésteres metílicos.

A identificação dos picos no cromatograma foi efetuada por comparação dos tempos de retenção obtidos com os tempos de retenção de padrões injetados. Ainda, para confirmação, foi adicionado à amostra, padrão de ácido graxo suposto; isto foi feito no caso de ocorrência de alguma dúvida, principalmente quando o ácido graxo estava presente em pequena quantidade.

Dosagem dos componentes

Para a análise quantitativa, como a concentração dos diferentes ácidos graxos fosse muito variada, foi necessária a obtenção de dois cromatogramas, injetando quantidades diferentes das soluções e variando, também, a atenuação da resposta do aparelho.

Para determinar a porcentagem relativa dos diferentes ácidos graxos foi empregado o processo de normalização interna ⁷, também de acordo com as normas adotadas pela O.I.C.C. ⁸.

Neste processo é admitido que a soma das áreas dos picos dos ésteres metílicos

dos ácidos graxos é proporcional à massa dos componentes e corresponde a 100% da mistura.

Assim, a porcentagem em massa foi determinada pela fórmula:

$$\text{éster metílico } x (\%) = \frac{a}{b} \times 100$$

a = área do pico do éster metílico x

b = Σ das áreas dos picos dos ésteres metílicos

Ainda a O.I.C.C. ⁸ recomenda que os resultados sejam sempre referidos com 3 algarismos significativos, na seguinte base: 3 algarismos para ácidos graxos em concentração acima de 10%; 2 algarismos para ácidos graxos em concentração entre 1 e 10% e 1 algarismo para ácidos graxos em concentração abaixo de 1%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na primeira parte do trabalho, referente ao padrão de qualidade e índice de pureza da manteiga de cacau, estão reunidos na tabela 1 e podemos verificar que os dados obtidos caíram dentro dos limites estabelecidos pela legislação em vigor no Brasil ¹⁰ que coincidem com os limites constantes na Farmacopéia Brasileira ⁶.

TABELA 1

Constantes físico-químicas e determinações em manteiga de cacau*

	Mínimo	Máximo
Ponto de fusão em °C	28,0	32,8
Índice de refração, a 40°C	1,456	1,458
Índice de acidez	2,18	5,00
Índice de saponificação	189,45	196,50
Índice de iodo	34,54	39,74
Substâncias voláteis a 105°C %	0,03	0,22
Matéria insaponificável %	0,23	0,76

* N.º de amostras = 13

Na composição dos ácidos graxos da manteiga de cacau, identificamos em todas as amostras os seguintes ácidos: mirístico, palmítico, palmitolêico, ácido graxo saturado com 17 átomos de carbono, esteárico, olêico, linolêico, araquídico, linolênico e behênico (fig. 1). Apenas em uma amostra

identificamos, a mais, ácido láurico. Esta amostra foi metilada pelos dois processos citados e o ácido láurico identificado nos cromatogramas obtidos (fig. 2).

Para a determinação da porcentagem dos ácidos graxos, foram utilizados dois cromatogramas para cada amostra, como

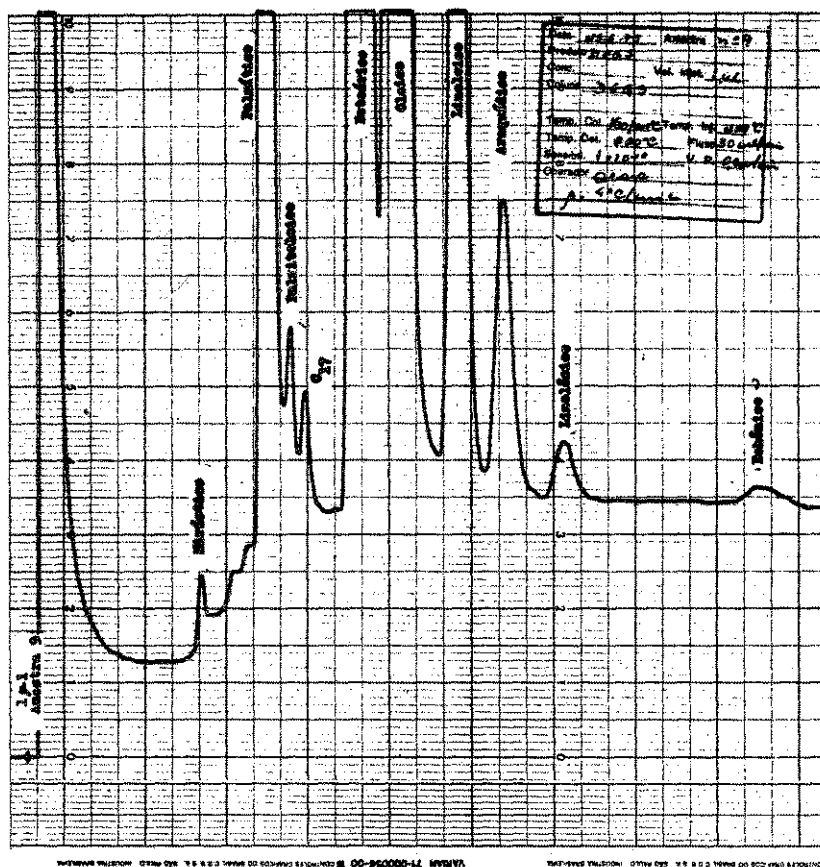
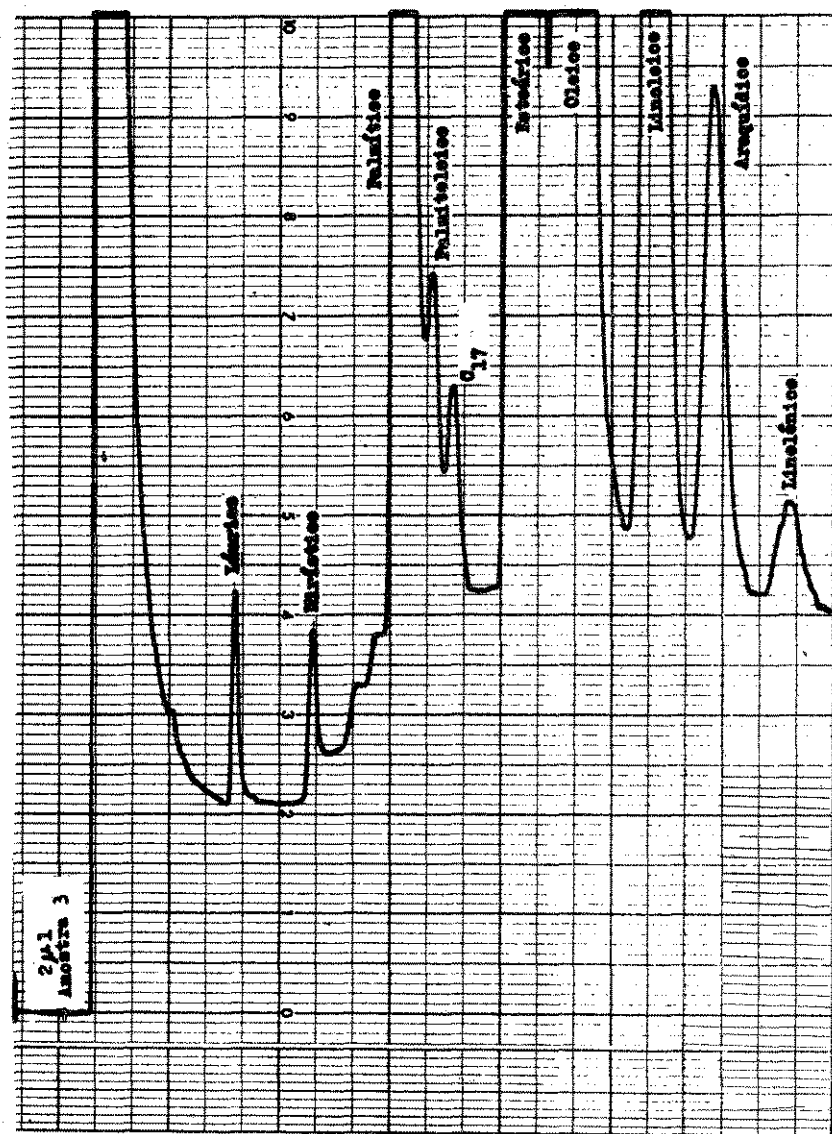


Fig 1 — Cromatograma de ácidos graxos de manteiga de cacau (sensibilidade = 1×10^{-10}).
Chromatogram of fatty acids in cocoa butter (sensitivity = 1×10^{-10}).



VARIAN 71-00056-00

Fig. 2 — Cromatograma de ácidos graxos de manteiga de cacau apresentando ácido láurico (sensibilidade = 1×10^{-10}).

Chromatogram of fatty acids in cocoa butter with lauric acid (sensitivity = 1×10^{-10}).

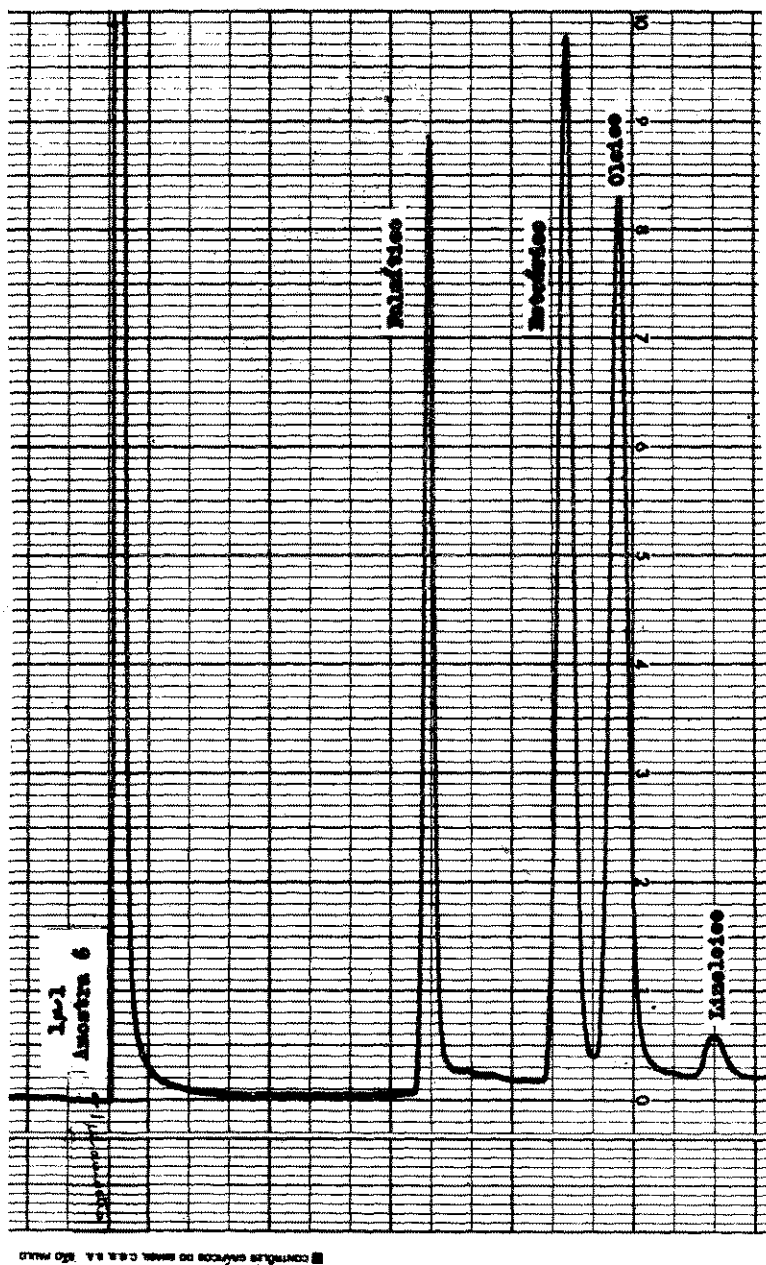


Fig. 3 — Cromatograma de ácidos graxos de manteiga de cacau (sensibilidade = 32×10^{-10}).

Chromatogram of fatty acids in cocoa butter (sensitivity = 32×10^{-10}).

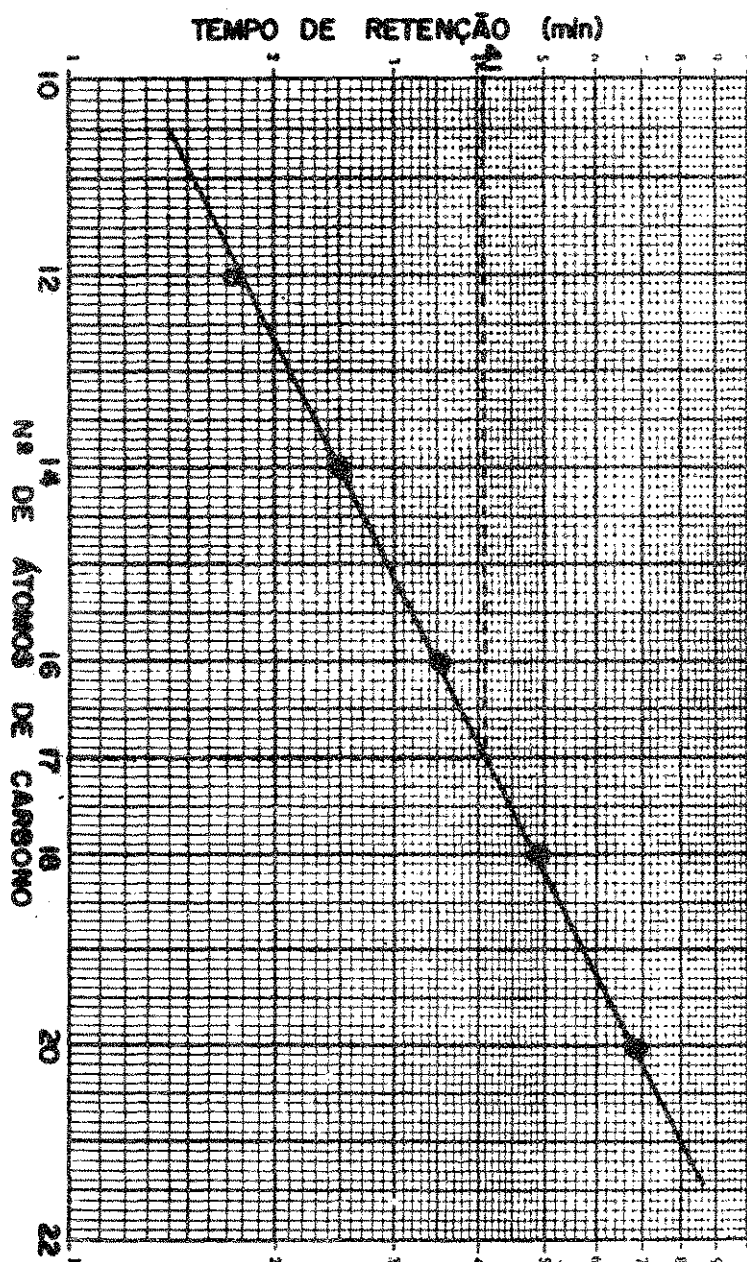


Fig. 4 — Gráfico para a identificação do ácido graxo com 17 átomos de carbono.

Identification of the fatty acid with 17 carbon atoms.

mostram as figuras 1 e 3. Os resultados obtidos estão reunidos na tabela 2.

TABELA 2

Composição dos ácidos graxos de manteiga de cacau *

Ácidos graxos	Mínimo %	Máximo %
Láurico	—	0,2
Mirístico	0,05	0,1
Palmitico	23,3	27,7
Palmitoléico	0,1	0,1
C ₁₇	0,1	0,2
Esteárico	32,1	36,4
Oléico	32,5	37,8
Linoléico	2,5	4,4
Araquídico	0,8	1,5
Linolênico	0,1	0,3
Behênico	0,1	0,2

*N.º de amostras = 13

Para a identificação do pico que emerge logo após o pico correspondente ao ácido palmitoléico, como não coincidissem com nenhum dos padrões disponíveis, foi empregado o método gráfico⁴, baseado no princípio que o logaritmo dos tempos de retenção é função linear do número de átomos de carbono (fig. 4). Tal conclusão foi baseada, também, nos trabalhos de BELLA-VITA & DAMIANI² e VAN WIJNGAARDEN *et alii*¹¹ que citam a presença desse ácido em manteiga de cacau.

Na literatura consultada não encontramos nenhum trabalho referente à composição de ácidos graxos em manteiga de cacau, efetuado no Brasil, por cromatografia em fase gasosa.

Entretanto, se compararmos os nossos resultados com trabalhos efetuados em outros países, verificamos que os nossos dados, praticamente, caem dentro dos limites citados por BRACCO *et alii*³ e VAN WIJNGAARDEN *et alii*¹¹ (tabela 3).

TABELA 3

Porcentagens dos ácidos graxos da manteiga de cacau encontradas pelos autores

Ácidos graxos	ALMEIDA <i>et alii</i> %	BRACCO <i>et alii</i> ³ %	VAN WIJNGAARDEN <i>et alii</i> ¹¹ %
Láurico	0,2	0,1	tr
Mirístico	0,05 - 0,1	0,1 - 0,3	tr - 0,2
Palmitico	23,3 - 27,7	24,5 - 27,8	24,9 - 29,2
Palmitoleico	0,1	0,2 - 0,3	0,2 - 0,5
C ₁₇	0,1 - 0,2	—	0,4
Esteárico	32,1 - 36,4	32,2 - 35,7	32,5 - 37,0
Oleico	32,5 - 37,8	32,3 - 38,7	32,6 - 35,8
Linoleico	2,5 - 4,4	2,6 - 4,9	2,6 - 3,7
Araquídico	0,8 - 1,5	0,5 - 1,2	0,9 - 1,4
Linolênico	0,1 - 0,3	0,1 - 0,2	tr - 0,3
Behênico	0,1 - 0,2	—	0,9 - 1,4
N.º de amostras	13	21	31

tr = traços

— = não mencionada pelo autor

CONCLUSÃO

As amostras de manteiga de cacau analisadas apresentaram um padrão de qualidade de acordo com as exigências internacionais.

A modificação por nós introduzida, no método de transesterificação em ampola,

deu bons resultados comparáveis ao processo de metilação clássico que utiliza BF₃ como catalisador.

Salientamos, ainda, a identificação, em todas as amostras, de um ácido graxo com 17 átomos de carbono.

RIAL-A/422

ALMEIDA, M.E.W.; NAKANO, C. & BADOLATO, E.G. — Gas-liquid chromatography of fatty acids in cocoa butter from Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 81-89, 1975/76.

SUMMARY: In order to establish the quality standards of the cocoa butter produced in Brazil the following determinations were made: acid value, index of refraction, iodine absorption number, melting point, moisture and volatile matters, and unsaponifiable residues.

The composition of the fatty acids was also determined. An adaptation to the process of methylation through transesterification with sodium methylate was made too. Methyl esters were analysed by gas-liquid chromatography with a flame ionization detector.

The following acids were identified and determined: lauric, myristic palmitic, palmitoleic, stearic, oleic, linoleic, arachidic, linolenic and behenic acids.

Furthermore, another saturated fatty acid with 17 carbon atoms was also detected.

DESCRIPTORS: fatty acids, determination in cocoa butter by gas-liquid chromatography; cocoa butter, fatty acids determination by gas-liquid chromatography.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 12nd ed. Washington, A.O.A.C. 1975. p. 500.
2. BELLAVITA, N.C. & DAMIANI, P. Indagini gas-cromatografiche su grasse di cocco rettificato impiegato per la sofisticazione del burro di cacao. *Chimica (Milano)*, 45: 10-5, 1969.
3. BRACCO, V.; ROSTAGNO, W. & EGLI, R.H. — A story of cocoa butter — Illipe butter mixtures (*Shorea stenoptera* L.). *Int. Choc. Rev.*, 25: 38-43, 1970.
4. CIOLA, R. — *Introdução à cromatografia em fase gasosa*. São Paulo, Edgard Blücher, 1973. p. 98 e 103.
5. DE FRANCESCO, F. & MAGLITTO, C. — Transesterification of glycerides by methyl alcohol. Preparation of methyl esters for vapor phase chromatography. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 39, 245-8. 1962.
6. FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil. 2.^a ed. São Paulo, Siqueira, 1959. 1265 p.
7. McNAIR, H.M. & BONELLI, E.J. — *Basic gas chromatography*. 5th ed. Bekerley, Cal., Varian Aerograph [1939]. p. 139-40.
8. OFFICE INTERNATIONAL DU CACAO ET DU CHOCOLAT. Préparation des esters méthyliques des acides gras. *Rev. int. Choc*, 28: 226-7, 1973.
9. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1, Métodos químicos e físicos para análises de alimentos*. São Paulo [1967].
10. SÃO PAULO. Leis, decretos, etc. Decreto n.º 52.504 de 28 de julho de 1970. Aprova normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas. São Paulo, Serv. gráf. Secretaria da Saúde, 1970. p. 143.
11. VAN WIJNGAARDEN, D.; THYSSEN, L.A. & OSSINGA, T.D. — Fatty acid composition of cocoa butter by gas chromatography. *Z. Lebensmittel. Unters. Forsch.*, 137(3): 171-9, 1968 apud *Chem. Abstr.* 69, 58476a, 1968.

Recebido para publicação em 1.º de outubro de 1975

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA EM ANIMAIS QUANDO INOCULADOS COM *NEISSERIA MENINGITIDIS* DOS GRUPOS "A" E "C" *

José Pascoal SIMONETTI **
Augusta K. TAKEDA **
Bruno SOERESEN ***
Orivaldo ZIQUINATTI **
Nereide B. BOSCARDIN **

RIAL-A/423

SIMONETTI, J.P.; TAKEDA, A.K.; SOERESEN, B.; ZIQUINATTI, O. & BOSCARDIN, N.B. — Avaliação da resposta imunológica em animais quando inoculados com *Neisseria meningitidis* dos grupos "A" e "C". *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 91-101, 1975/76.

RESUMO: Para o estudo do comportamento da resposta imune à *N. meningitidis* dos grupos A e C, foram feitas inoculações em quarenta coelhos e quatro carneiros, com bactérias vivas e mortas, bem como com polissacarídeos específicos dos grupos A e C com ou sem adjuvante, em diferentes doses e vias de inoculação. Foram feitas várias séries de inoculações para verificar o efeito secundário e terciário da resposta, bem como tipo de anticorpos envolvidos.

O nível de anticorpos e a permanência dos mesmos no soro foi medido através da reação de hemaglutinação passiva e da imunoelectroforese cruzada; esta última técnica foi utilizada nestes soros para detecção de antígenos polissacarídicos da *N. meningitidis*.

A análise dos resultados obtidos mostra que não existe diferença nas respostas imunes, nas concentrações variando de $5,6 \times 10^7$ a $2,4 \times 10^{10}$ bactérias por coelho. Os anticorpos, tanto hemaglutinantes como precipitantes, apareceram 5 dias após a última inoculação, permanecendo por um tempo médio de vinte e cinco dias. Não houve diferença significativa nas respostas primárias, secundária e terciária, sendo que os anticorpos precipitantes apareciam em maior concentração após inoculação de séries sucessivas.

Os polissacarídeos, quando inoculados intravenosamente, não ilicitaram resposta imune, porém eles se tornaram imunogênicos, quando administrados por via intradérmica, com o adjuvante completo de Freund.

DESCRIPTORIOS: *Neisseria meningitidis*, sorogrupos A e C; *Neisseria meningitidis*, imunogenicidade em animais.

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Do Instituto Butantan, São Paulo, S.P.

INTRODUÇÃO

Em virtude do surto epidêmico de *N. meningitidis* na Grande São Paulo, houve necessidade da obtenção, em grande escala, de anti-soros específicos e potentes contra a *N. meningitidis* dos grupos A e C, para serem utilizados no diagnóstico da infecção meningocócica. Com tal objetivo foram preparados diferentes esquemas de imunização, onde se estudou a variação da dose inoculada 2, 3, 4, 5, 7, 10, bem como a concentração em bactérias por ml 2, 3, 4, 5, 6, 8. Estudou-se ainda o comportamento de diferentes animais em relação a diferentes vias de inoculação com ou sem adjuvante 11, 13, sendo observada a imunogenicidade dos antígenos e a permanência da resposta imunológica aos mesmos, quando se utilizavam doses booster 2,3,4,5,6,7,9,10, 11,13.

Também foram avaliadas as respostas imunes primária, secundária e terciária, bem como a existência ou não de fenômenos de tolerância imunológica.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Bactérias íntegras

Foram usadas cepas dos grupos A e C de *N. meningitidis* isoladas do líquido cefalorraquidiano. As culturas foram obtidas em caldo de M. Hinton, submetidas a agitação constante, a 37°C, durante 16 a 18 horas e, a seguir, foram tratadas com formaldeído na concentração final de 2% e lavadas três vezes por centrifugação em solução fisiológica estéril. O sedimento obtido foi ressuspenso em solução fisiológica nas concentrações de $8,0 \times 10^6$ a $3,0 \times 10^9$ bactérias por ml, de acordo com a percentagem de transmitância, mostrada na tabela 1:

Foi incluída ainda uma preparação de *N. meningitidis* viva, também submetida a lavagem por centrifugação e, logo a seguir, ressuspenso.

2. Polissacarídeos

Foram utilizados polissacarídeos de vacina antimeningocócica*, grupos A e C, e polissacarídeos extraídos de *N. meningitidis*.

TABELA 1
Concentrações dos antígenos, inoculados por via intravenosa, nos diferentes esquemas

Esquemas de imunização	Antígeno <i>N. meningitidis</i> Grupos	Número de coelhos	Concentrações		
			Bact./coelho	Bact./ml	Transmitância* %
c	A	3	$5,6 \times 10^7$	$8,0 \times 10^6$	98
	C	3			
a	A	3	$2,5 \times 10^8$	$3,6 \times 10^7$	96
	C	2			
a	A	8	$6,3 \times 10^9$	$9,0 \times 10^8$	60
	C	8			
b	A	3**	$7,9 \times 10^9$	$9,0 \times 10^8$	60
	C	3**			
c	A	3	$8,3 \times 10^9$	$9,0 \times 10^8$	60
	C	1			
b	A	1	$2,4 \times 10^{10}$	$2,4 \times 10^9$	35
	C	1		$3,0 \times 10^9$	30

* As percentagens de transmitância (a 650 nm) são aproximadas.

** Um animal de cada grupo foi inoculado com suspensão de bactérias vivas.

* Merck, Sharp & Dohme Research Laboratories, E.U.A.

SIMONETTI, J.P.; TAKEDA, A.K.; SOERENSEN, B.; ZIQUINATTI, O. & LOSCARDIN, N.B. — Avaliação da resposta imunológica em animais quando inoculados com *Neisseria meningitidis* dos grupos "A" e "C". *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 91-101, 1975/76.

TABELA 2
Esquemas de imunização de coelhos inoculados com *N. meningitidis* dos grupos A e C

Esquemas de imunização	Inoculações em ml								
	1. ^a Semana			2. ^a Semana			3. ^a Semana		
	1. ^o dia	2. ^o dia	3. ^o dia	1. ^o dia	2. ^o dia	3. ^o dia	1. ^o dia	2. ^o dia	3. ^o dia
a	0,25	0,25	0,50	0,50	0,50	1,00	1,00	1,00	2,00
b	0,25	0,50	0,50	0,50	1,00	1,00	1,00	2,00	2,00
c	0,25	0,50	0,50	1,00	1,00	1,00	1,00	2,00	2,00

grupos A e C, segundo a técnica de CARBONARE *et alii* 1.

3. Adjuvante

O adjuvante completo de Freund foi preparado com 85% de óleo mineral inerte — Nujol; 15% de substância tensioativa — Arlacel — e 1 mg/ml de bacilos da tuberculose (obtidos de B.C.G.).

4. Animais

Quarenta coelhos, pesando 2.500 a 3.500 g, foram inoculados com *N. meningitidis* dos grupos A e C, segundo os esquemas apresentados na tabela 2. Na tabela 1 é apresentada a concentração do antígeno utilizado.

Quatro carneiros adultos foram inoculados com *N. meningitidis* dos grupos A e C, segundo o esquema para a 1.^a série apresentada na tabela 3.

O esquema utilizado para a 2.^a série foi semelhante ao dos coelhos inoculados

com concentração de $9,0 \times 10^8$ bactérias por ml, havendo alteração na dose de 7,25 vezes maior para o antígeno do grupo A e 2,5 vezes maior para o do grupo C (tabelas 1 e 2).

O esquema utilizado para a 3.^a e 4.^a séries, tanto para o antígeno do grupo A como para o do grupo C, foi 1,8 vezes maior.

5. Métodos sorológicos

Os antígenos polissacarídicos foram detectados pela reação de imuno-elektroforese cruzada (I.C.) em acetato de celulose, efetuada segundo a técnica pesquisada por PALHARES *et alii* 10.

Anticorpos específicos foram determinados pela reação de hemaglutinação passiva (H.P.), de acordo com a técnica descrita por TAKEDA *et alii* 12, como também pela imuno-elektroforese cruzada.

TABELA 3
Esquemas de imunização, durante a 1.^a série de inoculações em carneiros, utilizando como antígeno *Neisseria meningitidis*, grupos A e C, mortas

Antígenos <i>N. meningitidis</i>	Concentração de Bactérias							Vias
	Transmitância %	55	76	80	0*	25	0**	
GRUPO A	Volume ml	2,0	1,0	2,0	1,0	1,0	1,0	Intravenosa e intradérmicas alternadas
	Transmitância %	35	75	80	0*	25	0**	
GRUPO C	Volume ml	0,5	1,0	2,0	1,0	1,0	1,0	Intravenosa

* 5 inoculações de papa de bactéria

** 2 inoculações de papa de bactéria

RESULTADOS

1. Avaliação da resposta imunológica dos coelhos

Através da análise das tabelas 4 e 5, pode-se verificar que:

a) Existe especificidade nas respostas dos coelhos imunizados com *N. meningitidis* dos grupos A e C.

b) Não há diferenças significativas dos níveis de anticorpos em relação à dose.

c) O polissacarídeo do grupo C não foi imunogênico, quando administrado intravenosamente.

d) Os polissacarídeos dos grupos A e C, quando inoculados com o adjuvante completo de Freund, via intradérmica, passam a ser imunogênicos.

e) A resposta imune a polissacarídeos é mais tardia e os títulos de anticorpos, mais baixos, em relação àquela obtida quando se utiliza bactéria íntegra.

f) Os anti-soros obtidos com a bactéria íntegra apresentam anticorpos precipitantes capazes de detectar até 0,03 µg/ml de polissacarídeos específicos na reação de

I.C., podendo ser utilizados no diagnóstico de doença meningocócica no líquido cefalorraquidiano.

TABELA 4

Demonstração da resposta imune dos coelhos inoculados, por via intravenosa, com diferentes concentrações de *Neisseria meningitidis* dos grupos A e C

Dose Bactérias/ coelho	N.º de coelhos	Antígeno <i>N.</i> <i>meningitidis</i> Grupo	H.P. Títulos		I.C. Títulos		Período para obtenção dos títulos
			Ac A	Ac C	Ac A	Ac C	
5,6 x 10 ⁷	3 3	A	2.048	—	+	—	5 dias após a última inoculação
		C	—	1.024	—	+	
2,5 x 10 ⁸	3 2	A	2.048	—	+	—	
		C	—	1.024	—	+	
6,3 x 10 ⁹	8 8	A	4.096	—	+	—	
		C	—	1.024	—	+	
7,9 x 10 ⁹	1 1	A	4.096	—	+	—	
		C	—	4.096	—	+	
7,9 x 10 ⁹	1 1	A (viva)	2.048	—	+	—	
		C (viva)	—	4.096	—	+	
8,3 x 10 ⁹	3 1	A	4.096	—	+	—	
		C	—	4.096	—	+	
2,4 x 10 ¹⁰	1 1	A	2.048	—	+	—	
		C	—	4.096	—	+	

H.P. = Hemaglutinação passiva
I.C. = Imunoeletroforese cruzada
Ac = Anticorpos antipolissacarídeos

+ positivo
— negativo

SIMONETTI, J.P.; TAKEDA, A.K.; SOERESSEN, B.; ZIQUINATTI, O. & BOSCARDIN, N.B. — Avaliação da resposta imunológica em animais quando inoculados com *Neisseria meningitidis* dos grupos "A" e "C". *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 91-101, 1975/76.

TABELA 5
Demonstração da resposta imune dos coelhos inoculados, por via intravenosa ou via intradérmica, com polissacarídeos dos grupos A e C

Dose em ml	N.º de Coelhos	Antígeno polissacarídico de <i>N. Meningitidis</i>	H.P. Títulos		I.C. Títulos		VIA	Período para obtenção dos títulos
			Ac A	Ac C	Ac A	Ac C		
8,75	1	Grupo A	32	—	—	—	Intradérmica com A.C.F.	60 dias
	1	Grupo C	—	256	—	—		
	1	Grupo C	—	—	—	—	Intravenosa	

H.P. = Hemaglutinação passiva

I.C. = Imunoeletroforese cruzada

Ac = Anticorpos antipolissacarídeos

A.C.F. = Adjuvante completo de Freund

— negativo

+ positivo

2. Variação da resposta imunológica dos animais

A figura 1 mostra a permanência da resposta em coelhos inoculados com *N. meningitidis* dos grupos A e C, via intravenosa, durante duas séries de inoculações. Pode-se verificar que:

a) Os anticorpos precipitantes permaneceram durante um período médio de vinte dias, tanto na 1.^a como na 2.^a séries;

b) os anticorpos hemaglutinantes atingiram um título máximo de 4096, permanecendo por dez dias; em seguida, verificou-se uma queda a partir do trigésimo dia após a última inoculação;

c) não houve variação significativa na resposta imune entre as duas séries de inoculações, como também não houve variação da resposta em relação à concentração de bactérias inoculadas por coelho, quando esta concentração variou de $6,0 \times 10^6$ a $9,0 \times 10^8$ bactérias por ml.

A variação da resposta imune à *N. meningitidis*, grupos A e C, durante um período médio de 17 dias, é demonstrada na figura 2:

a) A variação da resposta imunogênica dos coelhos que receberam 3 séries de inoculações foi significativa em relação à produção de anticorpos hemaglutinantes, sendo que um maior número de coelhos respondeu na faixa de títulos de anticorpos de 512 a 4096;

b) não se conseguiu uma elevação de títulos, tanto na 2.^a como na 3.^a séries de inoculações;

c) os anticorpos precipitantes se tornaram mais potentes e específicos, à medida que aumentava o número de séries de inoculações.

A variação da resposta imunológica dos carneiros inoculados com *N. meningitidis* dos grupos A e C, durante quatro séries, é mostrada na figura 3:

a) A dose de antígenos utilizada durante a 1.^a série foi excessiva, uma vez que foi detectada a presença de antígeno no soro desses animais e, conseqüentemente, queda brusca no nível de anticorpos;

b) com a redução das doses do antígeno inoculado, obteve-se uma melhor resposta, não se detectando antígeno no sangue circulante desses animais;

c) o título obtido na segunda série permaneceu constante por um tempo maior (45 dias);

d) observa-se que as concentrações mais baixas utilizadas durante a 3.^a e 4.^a séries foram responsáveis pela menor flutuação dos títulos, com um período maior de permanência;

e) não houve grande variação nos títulos máximos obtidos nas quatro séries;

f) a permanência dos níveis de anticorpos hemaglutinantes foi maior para as três últimas séries, em uma faixa de variação no título de 2.048 a 16.384;

g) em relação a anticorpos precipitantes, conseguiu-se uma resposta melhor nas três séries subsequentes, detectando-se até $0,03 \mu\text{g/ml}$ de polissacarídeos específicos.

h) Existe uma correlação indireta entre o nível de anticorpos hemaglutinantes e precipitantes.

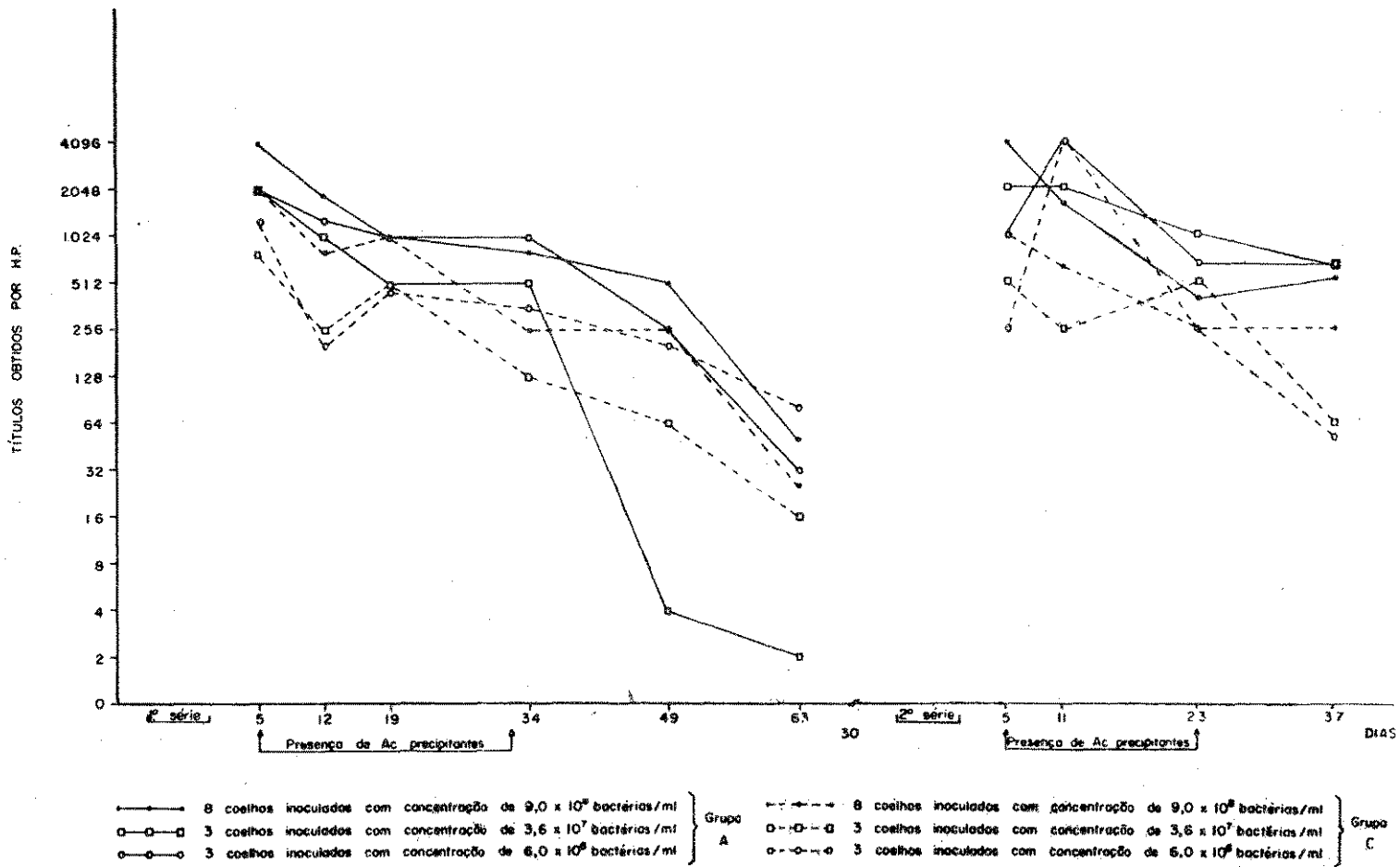


Fig.1— Permanência de títulos após a 1.^a e 2.^a séries de inoculações com suspensão de *Neisseria meningitidis* dos grupos A e C, mortas, em diferentes concentrações.

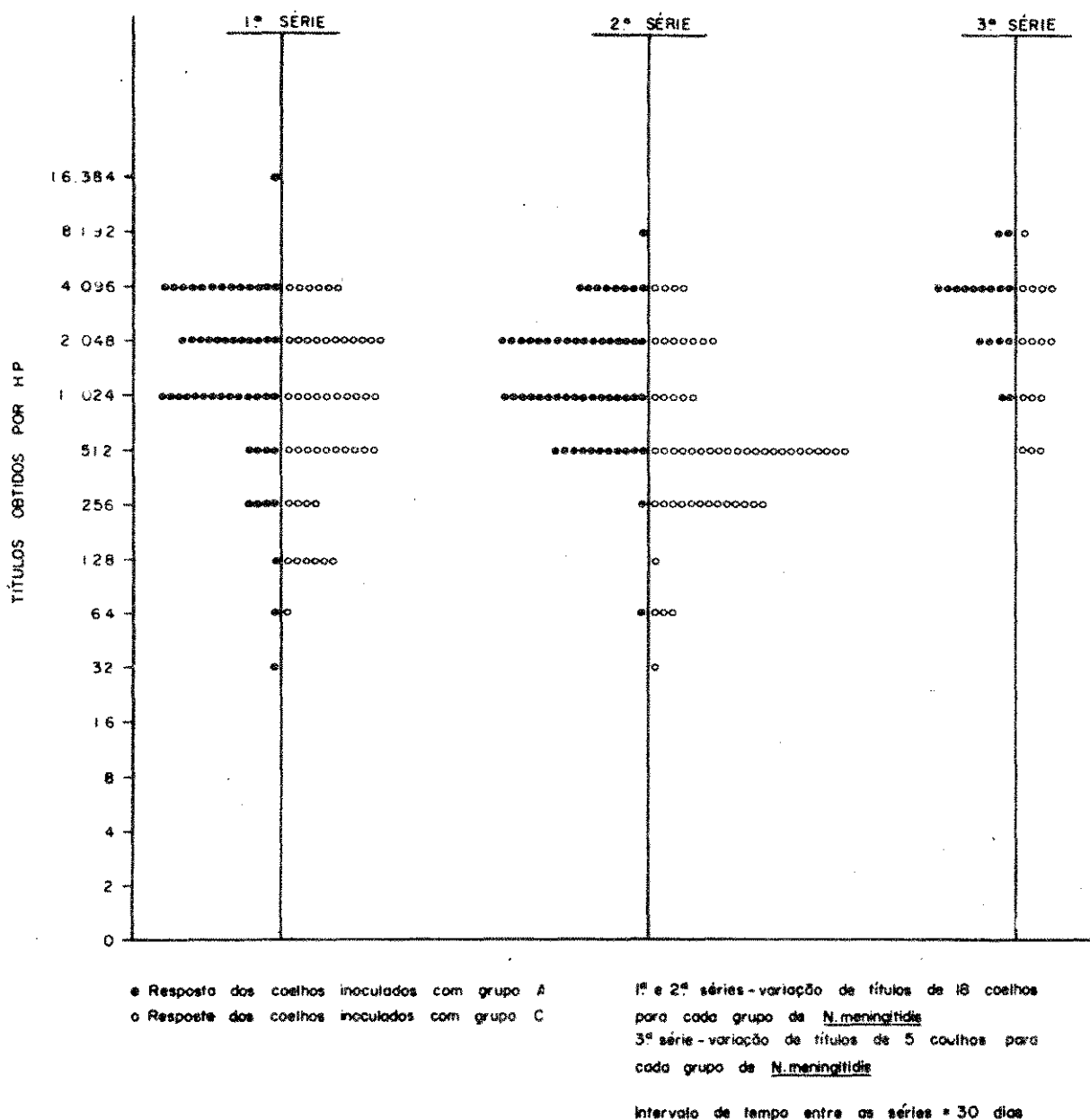


Fig. 2 — Variação de resposta à *Neisseria Meningitidis* dos grupos A e C durante um período médio de 17 dias após a última inoculação com diferentes concentrações.

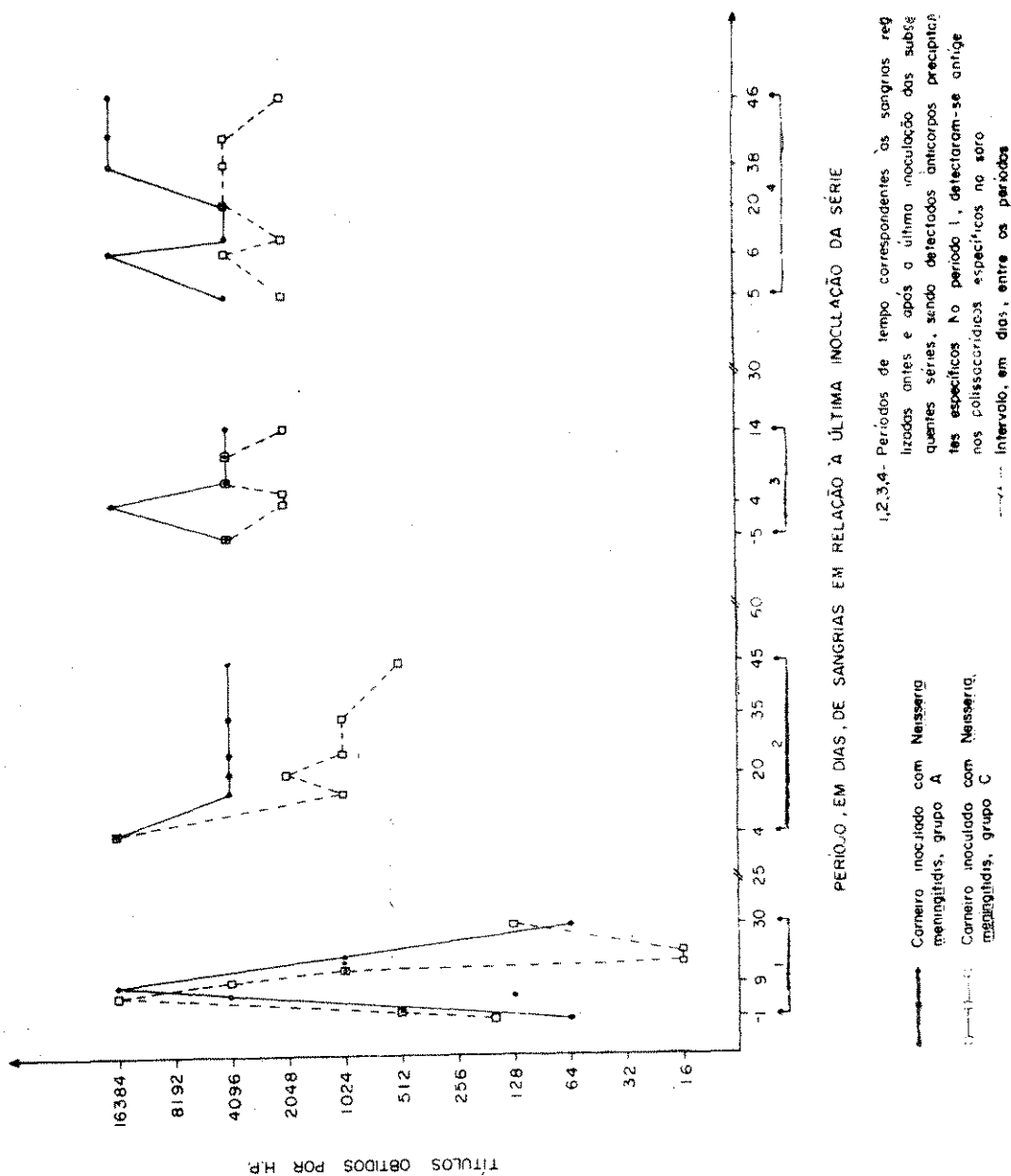


Fig. 3 — Avaliação da resposta imunológica dos dois carneiros inoculados com *Neisseria meningitidis* dos grupos A e C, durante 4 séries de inoculações com diferentes concentrações.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A necessidade da obtenção de grande quantidade de anti-soros potentes e específicos, para ser utilizada no diagnóstico de infecção meningocócica, levou-nos ao estudo do melhor esquema de imunização, onde fosse possível determinar o tempo de aparecimento de títulos máximos, como também o período de permanência desses títulos e, ainda, a concentração ideal de antígeno inoculado, o qual poderia, em dose elevada, levar a uma toxicidade ou a uma parálise imunológica.

A ausência de produção de anticorpos específicos a antígenos polissacarídicos purificados quando inoculados por via intravenosa, mostra a importância da utilização do adjuvante completo de Freund, utilizando a via intradérmica.

A resposta ao antígeno polissacarídico não purificado, ou seja, associado à bactéria na sua forma de origem de acordo com dados apresentados, leva-nos à hipótese da existência de componentes da constituição bacteriana, que viriam a atuar como adjuvantes. Com base nisso, podemos afirmar que antígeno, adjuvante e via de inoculação são interdependentes, dentro de um esquema de imunização.

Em várias séries de inoculações em coelhos e carneiros, observou-se que os títulos máximos obtidos eram sugestivos de uma ausência de resposta secundária, ou que as inoculações subseqüentes utilizadas com o intuito de *booster* tinham como efeito a elevação da produção de anticorpos até um determinado título máximo que foi igual para todas as séries de inoculação.

O comportamento dos carneiros (fig. 3) destaca em primeiro plano a discrepante resposta obtida após a 1.^a série de inoculações em relação às subseqüentes séries,

uma vez que os títulos de anticorpos inicialmente obtidos tiveram variações acentuadas, alcançando um título máximo com pequeno período de permanência e uma rápida queda subseqüente. Tendo-se detectado antígeno no soro desses animais, provavelmente inoculado em dose elevada, os anticorpos produzidos teriam sido neutralizados por esses antígenos, impedindo a detecção *in vitro*, dada a formação e metabolização deste complexo antígeno-anticorpo. Também não foi verificada resposta secundária, uma vez que as doses de *booster* funcionaram apenas para a elevação de títulos até um máximo constante para todas as séries de inoculações.

Com a observação da permanência de títulos de anticorpos após a 2.^a, 3.^a e 4.^a séries de inoculações, onde foram utilizadas concentrações menores de antígenos, podem-se estabelecer esquemas quase que ideais para uma boa imunização, se bem que não definitivos, uma vez que o animal foi pré-imunizado (1.^a série).

Os anticorpos do tipo precipitante também apareceram em concentrações maiores, de acordo com a progressão das séries, levando-nos a concluir que o aparecimento dos mesmos depende de um número maior de estímulos ou de selecionamento de células imunocompetentes, com maior especificidade.

Os anti-soros obtidos para a *N. meningitidis* do grupo A eram todos específicos, enquanto que o mesmo não ocorreu com a *N. meningitidis* do grupo C. Este fato poderia ser explicado se levarmos em conta serem as *N. meningitidis* dos grupos A e C portadoras de um determinante antigênico comum o qual, no grupo A, não seria imunodominante, ou estaria antigenicamente mascarado. Esta reação cruzada pôde ser facilmente contornada absorvendo-se os soros com polissacarídeos ou bactérias de grupos específicos.

RIAL-A/423

SIMONETTI, J.P.; TAKEDA, A.K.; SOERESSEN, B.; ZIQUINATTI, O. & BOSCARDIN, N.B. — Evaluation of the immune response of animals inoculated with serogroups A and C *Neisseria meningitidis*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 91-101, 1975/76.

SUMMARY: In order to study the immune response to serogroups A and C *N. meningitidis* the author inoculated 40 rabbits and 4 sheeps with live and dead bacteria as well as with specific A and C polysaccharides, with and without adjuvants in different doses and by different inoculation vias. Several series of inoculation were carried out in order to verify the *booster* response. The level of the antibodies and their permanence in the serum was measured through passive haemagglutination and counter-immunoelectrophoresis. The same technic was used to detect the polysaccharide antigens of *N. meningitidis* in these sera.

The analysis of the results obtained indicated that there is no difference in the immune responses at concentrations varying from $5,6 \times 10^7$ to $2,4 \times 10^{10}$ bacteria per rabbit. Both haemagglutinating and precipitating antibodies appeared five days after the last inoculation and remained for an average period of twenty five days. There was no significant differences between primary, secondary and tertiary responses yet the precipitating antibodies appeared in heavier concentrations after inoculation of the successive series. When inoculated intravenously the polysaccharides did not induce immune response but they became immunogenic when injected intradermically with complete Freund adjuvant.

DESCRIPTORS: *Neisseria meningitidis*, serogroups A and C; *Neisseria meningitidis*, immunogenicity in animals.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CARBONARE, S.B.; TAKEDA, A.K.; JORDÃO, F.B.M. & TAUNAY, A.E. — Especificidade imunológica dos polissacarídeos extraídos de diferentes grupos de *Neisseria meningitidis*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 119-25, 1974.
2. COHEN, R.L. & ARTENSTEIN, M.S. — Hemagglutination inhibition for serogrouping of *Neisseria meningitidis*. *Appl. Microbiol.*, 23: 289-92, 1972.
3. CONRATH, T.B. — *Handbook of microtiter procedures*. Cambridge, Mass., Rynatech, 1972.
4. DEVINE, L.F.; RHODE III, S.L. & HAGERMAN, C.R. — Relationship of serogroups of *Neisseria meningitidis*. *Infect. Immun.*, 5: 48-54, 1972.
5. EVANS, J.R.; ARTENSTEIN, M.S. & HUNTER, D.H. — Prevalence of meningococcal serogroups and description of three new groups. *Am. J. Epidemiol.*, 87: 643-6, 1968.
6. GRIFFISS, J.M.; BANNATYNE, R.M.; ARTENSTEIN, M.S. & ANGLIN, C.S. — Recurrent meningococcal infection with an antigenically identical strain. *J. Am. med. Ass.*, 229: 68-70, 1974.
7. JENNINGS, H.J.; MARTIN, A.; KENNY, C.P. & DIENA, B.B. — Cross - protective antigens of *Neisseria meningitidis* obtained from slaterus group Y. *Infect. Immun.*, 5: 547-51, 1972.
8. KASPER, D.L.; WINKELHAKE, J.L.; ZOLLINGER, W.D.; BRANDT, B.L. & ARTENSTEIN, M.S. — Immunochemical similarity between polysaccharide antigens of *Escherichia coli* 07:K1 (L); NM and group B *Neisseria meningitidis*. *J. Immun.*, 110: 262-8, 1973.

SIMONETTI, J.P.; TAKEDA, A.K.; SOERENSEN, B.; ZIQUINATTI, O. & BOSCARDIN, N.B. — Avaliação da resposta imunológica em animais quando inoculados com *Neisseria meningitidis* dos grupos "A" e "C". *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 91-101, 1975/76.

9. KASPER, D.L. & WYLE, F.A. — Bactericidal antibody assay using ¹⁴C-labeled *Neisseria meningitidis*. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 139: 1175-80, 1972.
10. PALHARES, M.; GELLI, D.S.; ALMEIDA, M.C.R.; MELLES, C.E.A.; TAKEDA, A.K. & TAUNAY, A.E. — Pesquisa de polissacarídeos de *Neisseria meningitidis* do Grupo C no líquido cefalorraquidiano por imunoelektroforese cruzada em acetato de celulose. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 33: 85-9, 1973.
11. PRIBNOW, J.F.; BESEMER, D.J.; HALL, J.M. & VEDROS, N.A. — Demonstration of delayed hypersensitivity to *Neisseria meningitidis*. *Can J. Microbiol.*, 19: 1473-9, 1973.
12. TAKEDA, A.K.; TAUNAY, A.E.; SCALABRINI, L.G.P. & CASTRO, I.O. — Anticorpos antipolissacarídeo C de *Neisseria meningitidis*: detecção através de hemaglutinação passiva em soros de pacientes e de vacinados. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 127-33, 1974.
13. WYLE, F.A.; ARTENSTEIN, M.S.; BRANDT, B.L.; TRAMONT, E.C.; KASPER, D.L.; ALTIERI, P.L.; BERMAN, S.L. & LOWENTHAL, J.P. — Immunologic response of man to group B meningococcal polysaccharide vaccines. *J. infect. Dis.*, 126: 514-22, 1972.

Recebido para publicação em 2 de outubro de 1975.

TOXOPLASMOSE NO BRASIL

Levantamento bibliográfico de 1908 a 1975 *

Saburo HYAKUTAKE **

Aldérica Barbosa MEARIM **

RIAL-A/424

HYAKUTAKE, S. & MEARIM, A.B. — Toxoplasmose no Brasil. Levantamento bibliográfico de 1908 a 1975. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 103-125, 1975/76.

RESUMO: É apresentado o levantamento bibliográfico sobre toxoplasmose no Brasil, abrangendo o período de 1908 a 1975.

DESCRITORES: toxoplasmose (Brasil); toxoplasmose, bibliografia brasileira, 1908 a 1975.

I N T R O D U Ç Ã O

Dentre os estudos de patologia humana e veterinária comparados, a toxoplasmose ocupa um lugar de suma importância, principalmente nas últimas décadas, por se constituir numa das zoonoses de maior difusão no mundo em que vivemos.

A descoberta do parasito no coelho, em São Paulo, por Splendore, em 1908 e, simultaneamente, em roedor norte-africano, o *gondi*, por Nicolle et Manceaux, na Tunísia, desencadeou uma série de investigações sobre o novo parasito e sobre as consequências do parasitismo, especialmente no campo da Veterinária. Na patologia humana, entretanto, tais investigações começaram a avolumar-se a partir de 1950, quando, como resultado do aprimoramento de técnicas de diagnóstico clínico, parasitológico e imunológico, ficou demonstrado que a toxoplasmose é uma das zoonoses que mais intensamente atingem o homem.

Nestes últimos anos foi conseguida a elucidação do ciclo biológico do *Toxoplasma gondii* por diferentes pesquisadores, entre eles, Jacobs, Dubey, Hutchison, Rommel, Frenkel. De tais indagações concluiu-se que o gato e outros felídeos são os hospedeiros definitivos daquele protozoário.

Em 1972, Jewel, Miller e Jamitschke estudaram o ciclo biológico em várias espécies da Família *Felidae* e confirmaram o fato de que somente nesta é que ocorre o ciclo sexuado do *Toxoplasma gondii*, traduzido pela eliminação de oocistos nas fezes. Quanto a outros hospedeiros, ocorrem, apenas, ciclos assexuados, por esquizogonia e por endodigonia. Deste modo, foi estabelecida definitivamente a posição taxonômica do parasito que se encontrava na *Incerta sedis*. Atualmente situa-se o *Toxoplasma gondii* no Filo *Protozoa*, Subfilo *Apicomplexa* o qual apresenta uma estruturação apical complexa, comum aos parasitos da malária e da coccidiose; por sua peculiar reprodu-

* Realizado na Biblioteca do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

ção endodigênica, foi criada a Ordem *Endodiococcidia*.

Verifica-se, na atualidade, um crescente interesse em torno de tão importante e difundida parasitose, com o desenvolvimento de pesquisas na área epidemiológica, no estudo da ultraestrutura e da bioquímica do parasito. As informações preciosas que, sem cessar, vão surgindo de maneira impressionante, obrigam o pesquisador à intensa vigília em seus trabalhos.

A principal finalidade da presente publicação é reunir, na medida das nossas possibilidades, as referências nacionais sobre toxoplasmose humana e animal, na tentativa de avaliar a contribuição nacional, bem como facilitar aos estudiosos do assunto o conhecimento de numerosos trabalhos e teses publicados até esta data. Este trabalho registra sinaleticamente, e em ordem cronológica, os trabalhos publicados por autores brasileiros, no período de 1908 a 1975. Na sua elaboração consultamos índices, bibliografias e, até mesmo, as referências bibliográficas de trabalhos já publicados. Quando possível, os originais foram consultados, afim de que as informações fossem as mais exatas. Por outro lado, apesar de estarmos reunindo este material há mais de dois anos, sabemos que nem todos os trabalhos, publicados no Brasil, encontram-se aqui citados, dado às dificuldades de acesso às informações. Esperamos, contudo, que ele atinja sua finalidade precípua que é a de servir como uma fonte de informação para aqueles que estudam a toxoplasmose no Brasil.

1908

SPLENDORE, A. — Un nuovo protozoa parassita de'conigli incontrato nelle lesione anatomiche d'una malattia che ricorda in molti punti il Kala-azar dell'uomo. *R. Soc. Scient. S. Paulo*, 3 (10/12): 109-112, 1908. 1

1909

CARINI, A. — Reproduction experimentale de la toxoplasmose du lapin. *B. Soc. Pathol. Exot.*, 2 (8): 465-469, oct. 1909. 2

SPLENDORE, A. — Sopra un nuovo protozoo parassita de'conigli. *R. Soc. Scient. S. Paulo*, 4 (10/12): 75-79, abr./agô. 1909. 3

SPLENDORE, A. — Sur un nouveau protozoaire parasite du lapin. *B. Soc. Pathol. Exot.*, 2 (8): 462-465, oct. 1909. 4

1911

ARAGÃO, H.B. — Observações sobre algumas hemogregarinas das aves. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 3 (1): 54-64, 1911. 5

CARINI, A. — Infection spontanée du pigeon et du chien due au *Toxoplasma cuniculi*. *B. Soc. Pathol. Exot.*, 4 (8): 518-519, oct. 1911. 6

PARANHOS, U. — Toxoplasmose. *R. Vet. Zootec.*, 1 (2): 94-97, set. 1911. 7

1912

MIGLIANO, L. — Um caso de toxoplasmose canina. *Brasil Med.*, 26 (27): 273-274, jul. 1912. 8

1913

CARINI, A. & MACIEL, J. — A toxoplasmose natural do cão. *R. Vet. Zootec.*, 3 (6): 374-375, dez. 1913. 9

CARINI, A. & MACIEL, J. — Toxoplasmose naturelle du chien. *B. Soc. Pathol. Exot.*, 6 (10): 681-683, dec. 1913 10

MIGLIANO, L. — *Os toxoplasmas*. Rio de Janeiro, 1913. 76 p. [Tese — Faculdade Nacional de Medicina] 11

SPLENDORE, A. — Des formes flagellées et des gamètes dans le *Toxoplasma cuniculi*. *B. Soc. Pathol. Exot.*, 6 (5): 318-323, mai. 1913. 12

1914

ARANTES, J.B. — Infecções experimentais pelo toxoplasma. II. Novas localizações deste protozoário. III. A bipartição é o seu único processo de multiplicação. *Brasil Med.*, 28 (40): 373-376, out. 1914 13

ARANTES, J.B. — *Contribuição para o estudo do toxoplasma*. Rio de Janeiro, 1914, 58 p. [Tese inaug. — Faculdade de Medicina. Rio de Janeiro] 14

ARANTES, J.B. — Toxoplasmose. Evolução do *Toxoplasma canis* no systema nervoso do pombo e as lesões por ele produzidas. *Brasil Med.*, 28 (15): 144, abr. 1914. 15

CARINI, A. & MACIEL, J.J. — Infecção de toxoplasmose e de paralisia bulbar infectuosa pelas mucosas sans. *Brasil Med.*, 28 (5): 41, fev. 1914. 16

HYAKUTAKE, S. & MEARIM, A.B. — Toxoplasmose no Brasil. Levantamento bibliográfico de 1908 a 1975. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 103-125, 1975/76.

1916

CARINI, A. & MACIEL, J. — Quelques hémoparasites du Brésil. *B. Soc. Pathol. Exot.*, 9 (4): 247-265, avr. 1916. 17

CARINI, A. & MIGLIANO, L. — Sur un toxoplasme du cobaye. (*Toxoplasma caviae* n. sp.) *B. Soc. Pathol. Exot.*, 9 (7): 435-436, 1916. 18

1927

TORRES, C.M. — Affinités de l'*Encephalitozoon chagasi*, agent étiologique d'une méningo-encéphalo-myélite congénitale avec myocardite et myosite chez l'homme. *C. R. Soc. Biol.*, 97: 1797-1799, aout/nov. 1927. 19

TORRES, C.M. — Morphologie d'un nouveau parasite de l'homme l'*Encephalitozoon chagasi* n. sp. observé dans un cas de méningo-encéphalo-myélite congénitale avec myosite et myocardite. *C. R. Soc. Biol.*, 97: 1787-1790, aout/nov. 1927. 20

TORRES, C.M. — Sur une nouvelle maladie de l'homme caractérisée par la présence d'un parasite intracellulaire très proche du toxoplasma et de l'encephalitozoon, dans le tissu musculaire cardiaque, les muscles du squelette, le tissu cellulaire sous-cutané et le tissu nerveux. *C. R. Soc. Biol.*, 97: 1778-1781, aout/nov. 1927. 21

1928

TORRES, C.M. — Sobre uma nova entidade morbida do homem caracterizada por meningo-encéphalo-myélite, myosite e myocardite aguda difusa congênita, associadas à presença nos respectivos tecidos de um novo parasita, *Encephalitozoon chagasi*, M. Torres, 1927. *Brasil Med.*, 42 (1): 1-4, jan. 1928. 22

1929

PESSOA, S.B. & CORREA, C. — Nota sobre toxoplasmas dos pássaros. *An. Paul. Med. Cir.*, 20 (7): 103-106, jul. 1929. 23

1933

ARAGÃO, H.B. — Considérations sur les hémodégégarrines des oiseaux. *C. R. Soc. Biol.*, 133: 214-217, fev. 1933. 24

1934

PIRES, W. & SANTOS, V. — Lesões histopatológicas observadas num caso de toxoplasmose natural do pombo. *R. Dep. Nac. Prod. Anim.*, 1 (1): 19-22, 1934. 25

1941

TOSTES, J. & BRETZ, G. — Sobre uma rikettsiose observada em zona rural do Estado do Rio de Janeiro. *Brasil Med.*, 55 (48): 789-796, nov., 1941. 26

1942

BIOCCA, E. & PASQUALIN, R. — A ação terapêutica de alguns compostos sulfanilamidicos na infecção experimental por toxoplasma. *Arq. Biol.*, 26 (247): 107-109, abr./maio, 1942. 27

GUIMARAES, F.N. & MEYER, H. — Cultivo de *Toxoplasma* (Nicolle & Manceaux, 1909), em culturas de tecidos. *R. Eras. Biol.*, 2 (1): 123-129, mar. 1942. 28

NOBREGA, P. & REIS, J. — Identidade dos toxoplasmas de aves e de mamíferos. *Arq. Inst. Biol.*, 13: 21-28, set. 1942. 29

SPRINGER, L. — Toxoplasmose epizootica entre pombos. *Arq. Biol.*, 26 (246): 74-76, mar. 1942. 30

1943

BIOCCA, E. — Atividade quimioterápica da 4-nitro-4-formilamino-difenilsulfona (composto 117M). *Arq. Biol.*, 27 (255): 63-64, maio/jun. 1943. 31

BIOCCA, E. — Observações ulteriores na quimioterapia da toxoplasmose. *Arq. Biol.*, 27 (256): 89-91, jul./ago. 1943. 32

BIOCCA, E. — Quimioterapia sulfônica da toxoplasmose. *Arq. Biol.*, 27 (253): 7-10, jan./fev. 1943. 33

GUIMARAES, F.N. — Toxoplasmose humana. Meningoencefalite toxoplásmica: ocorrência em adulto e em recém-nascido. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 38 (3): 257-320, jun. 1943, e *Acta Med.*, 11 (8/9): 127-131, ago./set. 1943. 34

1944

BIOCCA, E. — Toxoplasmose e seu tratamento quimioterápico. *R. Bras. Med.*, 1 (5): 380-382, maio, 1944. 35

1945

BIOCCA, E. — Resistência a reinfeções de toxoplasma em animais tratados da toxoplasmose experimental com diferentes substâncias quimioterápicas. *Arq. Biol.*, 29 (267): 82-84, maio/jun. 1945. 36

BIOCCA, E. & NOBREGA, P. — Sobre a quimioterapia da toxoplasmose. *Arq. Inst. Biol.*, 16: 83-87, nov. 1945. 37

1945

MEYER, H. & OLIVEIRA, M.X. — Resultados de 3 anos de observação de cultivo de toxoplasma (Nicolle & Manceaux, 1909) em cultura de tecidos. *R. Bras. Biol.*, 5 (1): 145-146, abr. 1945. 38

1946

BIOCCA, E. & NÓBREGA, P. — Sobre a quimioterapia da toxoplasmose. *Arq. Biol.*, 30 (273): 63-66, maio/jun. 1946. 39

1947

BIOCCA, E. & NÓBREGA, P. — Pesquisas sobre a imunidade da toxoplasmose. *Arq. Biol.*, 31 (280): 82-85, jul./ago. 1947. 40

MONICI, N. — Alterações histológicas observadas em casos de toxoplasmose canina. *B. Soc. Paul. Med. Vet.*, 8 (1): 14-19, 1947. 41

1948

PARAENSE, W.L. — A ausência de ação terapêutica da Paludrine na toxoplasmose experimental. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 46 (3): 639-645, set. 1948. 42

1949

SANGIORGI, G. — Toxoplasma e toxoplasmose. *Res. Clin. Cient.*, 18 (12): 459-462, dez. 1949. 43

TOXOPLASMOSE. *Res. Clin. Cient.*, 18 (7): 273, jul. 1949. 44

1950

BUSSACA, A.; NÓBREGA, P. & TRAPP, E. — Considerations sur 23 cas de chorioretinite chez des sujets adults porteurs d'anticorps toxoplasmiques. *B. Mem. Soc. Franc. Ophthalmol.*, 63: 306-313, 1950. 45

DELASCIO, D. & REFINETTI, P. — Toxoplasmose congênita. *R. Paul. Med.*, 37 (5): 488-489, 1950. [Resumo] 46

NÓBREGA, P. — Toxoplasmose: generalidades e métodos de diagnóstico. *R. Paul. Med.*, 37 (5): 444-459, nov. 1950. 47

FIMENTA, A.M.; KRINSKY, E.; SILVA, C.P. da & MAFFEI, W.E. — Caso provável de toxoplasmose, forma cerebral. *R. Paul. Med.*, 37 (5): 487-488, 1950. [Resumo] 48

1951

NÓBREGA, P. — Toxoplasmose, uma doença de animais transmissível ao homem. *Biológico*, 17 (5): 79-83, 1951. 49

REZENDE, J. de — Alguns aspectos obstetricos da toxoplasmose humana. *An. Bras. Ginecol.*, 32 (2): 75-80, ago. 1951, e *F. Med.*, 32 (21): 163-165, nov. 1951. 50

1952

BUSSACA, A.; NÓBREGA, P. & GIOVANNONI, M. — Recherches cliniques et experimentales sur la toxoplasmose avec localisation oculaire. *Arch. Ophthalmol.*, 12 (7): 681-691, 1952. 51

DELASCIO, D. — Toxoplasmose congênita experimental no cobaio. *R. Paul. Med.*, 40 (2): 150, 1952. [Resumo] 52

DICKISTEIN, J.; RICCI, I. & GRELE, F.C. — Um caso de toxoplasmose congênita. *B. Centro Est. Fund. Clara Basbaum*, 2 (4): 111, jul./set. 1952. [Resumo] 53

GIOVANNONI, M.; MELLO, M.J. de & NÓBREGA, P. — Ensaio de transmissão da toxoplasmose por insetos hematófagos. *Arq. Inst. Biol.*, 21: 1-4, 1952. 54

MEIRA, J.A.; NÓBREGA, P. & AMATO NETO, V. — Toxoplasmose adquirida (forma febril exantemática). Considerações clínicas sobre um caso observado em adulto e diagnosticado pelas provas sorológicas. Efeito terapêutico do cloranfenicol. *R. Hosp. Clin.*, 7 (4): 265-290, out. 1952. 55

NÓBREGA, P. & GIOVANNONI, M. — Sobre a ação da terramicina na toxoplasmose experimental. *Arq. Inst. Biol.*, 21: 5-12, 1952. 56

NÓBREGA, P.; TRAPP, E.E. & GIOVANNONI, M. — Toxoplasmose epizoótica em coelhos. I. Ação da sulfadiazina. *Cien. Cult.*, 4 (3/4): 134-135, 1952. [Resumo] 57

1953

CARVALHO, A. de A.; ROCHA, H.S. & VIEIRA, F.B. — Toxoplasmose congênita. *Pediat. Prat.*, 24 (2): 53-68, 1953. 58

FIALHO, S.A. — *Toxoplasmose ocular. Contribuição ao estudo clínico e experimental.* Rio de Janeiro, 1953. 402 p. [Tese — Faculdade Nacional de Medicina] 59

1954

NEVES, J.G.; FERRI, A.G. & SALIBA, A.M. — Toxoplasmose canina. *O Veterinário*, 4 (1): 35-44, 1954. 60

1955

CASTRO, M.P. de — Divisão múltipla da toxoplasmose em cultura de tecidos. *Arq. Inst. Biol.*, 22: 233-241, 1955. 61

HYAKUTAKE, S. & MEARIM, A.B. — Toxoplasmose no Brasil. Levantamento bibliográfico de 1908 a 1975. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 103-125, 1975/76.

- DOBEREINER, J. — Toxoplasmose espontânea em macaco. *Veterinária*, 9 (1/2): 44-54, 1955. 62
- MEYER, H. & MENDONÇA, I. de A. — Electron microscopic observations of *Toxoplasma* "Nicolle et Manceaux" grown in tissue cultures. *Parasitology*, 45 (3/4): 449-451, nov. 1955. 63
- NÓBREGA, P.; TRAPP, E.E. & GIOVANNONI, M. Toxoplasmose epizootica em coelhos. II. Fenômenos de imunidade e resistência nos animais sobreviventes. *R. Bras. Biol.*, 15 (4): 377-382, dez. 1955. 64
- NÓBREGA, P.; TRAPP, E & GIOVANNONI, M. Toxoplasmose espontânea de galinha. *Arq. Inst. Biol.*, 22: 43-49, 1955. 65
- 1956**
- CARDOSO, R.A. de A.; GUIMARAES, F.N. & GARCIA, A.P. — Toxoplasmose congênita. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 54 (3): 571-598, dez. 1956. 66
- CURIAL, O. & MOLFI, A. — Verificação da toxoplasmose canina no Paraná. *Arq. Biol. Tecnol.*, 11: 9-12, 1956. 67
- DELASCIO, D. — Toxoplasmose congênita: aspectos clínicos, obstetricos e experimentais. *Matern. Inf.*, 15 (3) 179-532, jul./set. 1956. 68
- 1957**
- ALENCAR, A.A. de — Toxoplasmose espontânea e inaparente em anfíbios dos gêneros *Leptodactylis* e *Bufo*. *J. Bras. Neurol.*, 9 (1/3): 137-146, jan./dez. 1957. 69
- CORREA, W.M. — Toxoplasmose espontânea em canários. *Biológico*, 23: 95-98, 1957. 70
- MEYER, H. & MENDONÇA, I. de A. — Electron microscopic observations of *Toxoplasma* "Nicolle et Manceaux" in thin sections of tissue cultures. *Parasitology*, 47 (1/2): 66-69, jun. 1957. 71
- NUSSENWEIG, R.S. — Toxoplasmose. Inquérito sorológico feito pela prova do corante em doadores de sangue. *Hospital*, 51 (6): 723-728, jun. 1957. 72
- 1958**
- COUTINHO, M. — Toxoplasmose congênita. *Med. Cir.*, 19 (1): 3-8, jan./abr. 1958 73
- DEANE, M.P. — Estudos sobre a transmissão do *Toxoplasma gondii*. II. Notas sobre a transmissão experimental pelo carrapato *Amblyomma cajannense*. *R. Bras. Marariol. Doenç. Trop.*, 10 (4): 551-555, out. 1958. 74
- NUSSENWEIG, R.S. & DEANE, M.P. — Estudos sobre a transmissão do *Toxoplasma gondii*. I. Experiências com triatomíneos. *R. Bras. Malariol. Doenç Trop.*, 10 (4): 543-550, out. 1958. 75
- PINTO, C. — Toxoplasmose ou doença de Janko e Magarinos Torres. *R. Bras. Biol.*, 18 (2): 143-153, jun. 1958. 76
- PINTO, C. & MACIEL, J.J. — Semelhança das formas pulmonares da toxoplasmose (doença de Janku-Magarinos Torres) e na pneumocistiose humana. *Brasil Med.*, 72 (14/17): 153-159, abr. 1958. 77
- 1959**
- DEANE, M.P. & NUSSENZWEIG, R.S. — Observations on the diagnosis of chronic toxoplasma infection in mice. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 1 (2): 119-128, jul./ago 1959. 78
- MEIRA, J.A.; AMATO NETO, V.; NÓBREGA, P. & TRAPP, E.E. — Resultados de reações sorológicas para o diagnóstico da toxoplasmose efetuadas com o soro de pacientes com protozooses. *Hospital*, 55 (5): 641-648, maio. 1959. 79
- SILVA, J.M.L. — Sobre um caso de toxoplasmose espontânea em suínos. *Arq. Esc. Sup. Vet.*, 12: 425-428, 1959. 80
- 1960**
- MONICI N, & RIBEIRO, L.O.C. — Constatação de toxoplasmose em suínos. *Biológico*, 26 (10): 210, out. 1960. [Resumo] 81
- SILVA, L.H.P. — In vitro effect of the aminonucleoside of stylomycin and dimethyl-adenine against *Toxoplasma gondii*. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 2 (3): 155-162, maio/jun. 1960. 82
- 1961**
- CAMARGO, E.P.; CARNEIRO, M. das N.R. & SILVA, L.H.P. — Associação do aminonucleosídeo da estilomicina com a sulfadiazina na toxoplasmose experimental de camundongo. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 3 (4): 166-174, jul./ago. 1961. 83
- FIALHO, S.A. & TEIXEIRA, I. — Toxoplasmose e toxoplasmina. Censo epidemiológico da doença. *Arq. Inst. Penido Burnier*, 18: 114-121, 1961. 84
- SILVA, L.H.P. & CAMARGO, E.P. — Ação de alguns análogos de purina em particular e aminonucleosídeo da estilomicina, sobre a toxoplasmose experimental do camundongo. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 3 (3): 121-126, maio/ jun. 1961. 85

1962

FIORILLO, A.M. & UCHOA, P. — Toxoplasmose ocular. *R. Assoc. Med. Bras.*, 8 (6): 224-230, dez. 1962. 86

STUMM, E.V.; SILVA, D.A. da; AMARAL, L. B. S.; ZEZZA NETO, L. & VALENTE, F.A.T. — Sobre um surto de toxoplasmose em leitões no Estado de São Paulo. *Arq. Inst. Biol.*, 29: 47-54, 1962. 87

1963

AMATO NETO, V.; COTRIM, J.X.; LAUS, W.C. GOMES, M.C. de O. — Nota sobre o encontro de *Toxoplasma gondii* em sangue destinado à transfusão. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 5 (2): 68-69, maio/jun. 1963. 88

CASTRO, M.P. de & AMARAL, V. do — Divisão múltipla do *Toxoplasma gondii* em cultura de células. In: INTERNATIONAL CONGRESSES ON TROPICAL MEDICINE AND MALARIA, 7.º, Rio de Janeiro, 1963, *Proceedings*. Rio de Janeiro, 1963, v. 2, p. 353. 89

DEANE, L.M. et alii — Inquérito de toxoplasmose e de tripanossomíase realizado no território de Amapá, pela III Bandeira Científica do Centro Acadêmico "Oswaldo Cruz" da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. *R. Med.*, 47 (1): 1-12, fev. 1963. 90

PAIM, G.V. & QUEIROZ, J.C. — Capacidade da musca doméstica para albergar o *Toxoplasma gondii*. *Arq. Hig. Saúde Publ.*, 28 (97): 213-216, set. 1963. 91

QUINTÃO, E.C. da R. — Toxoplasmose adquirida: estudo hematológico, neurológico e eletrocardiográfico de um caso. *R. Bras. Malariol. Doenç. Trop.*, 15 (1): 31-40, jan./mar. 1963. 92

SCHVARTSMAN, S.; MANISSADJIAN, A.; NASCIMENTO FILHO, O.B.; PENA H.A.O. & MACHADO, E.M. — Toxoplasmose na criança. In: INTERNATIONAL CONGRESSES ON TROPICAL MEDICINE AND MALARIA, 7.º, Rio de Janeiro, 1963. *Proceedings*. Rio de Janeiro, 1963, v. 2, p. 337. 93

TEIXEIRA, M.I.S. — Toxoplasmose no Brasil. In: INTERNATIONAL CONGRESSES ON TROPICAL MEDICINE AND MALARIA, 7.º, Rio de Janeiro, 1963. *Proceedings*. Rio de Janeiro, 1963, v. 2, p. 358. 94

1964

CAMARGO, M.E. — Estudo comparativo das reações de Sabin-Feldman e de imunofluorescência indireta para a toxoplasmose em 1000 séros humanos. Comportamento anômalo de alguns séros. *R. Inst. Adolfo Lutz*, 24: 1-26, 1964. 95

CAMARGO, M.E. — Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 6 (3): 117-118, maio/jun. 1964. 96

CARVALHO, A. de — Toxoplasmose congênita. Apresentação de um caso. *B. Inst. Puer.* 21 (2/3): 219-225, set./dez. 1964. 97

DEANE, M.L. et alii — Inquérito de toxoplasmose e de tripanossomíase realizado em Cachoeira do Arari, ilha de Marajó, Pará, pela V Bandeira Científica do Centro Acadêmico "Oswaldo Cruz" da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. *R. Med.*, 48: 107-116, 1964. 98

FIORILLO, A.M.; FIGUEIREDO, J.A. & RIBEIRO, R.M. — Aspectos neurórgicos e eletrencefalográficos da toxoplasmose. *Arq. Neuro-Psiq.*, 22 (1): 51-54, mar. 1964. 99

JAMRA, L.M.F. — *Contribuição para a epidemiologia da toxoplasmose*. São Paulo, 1964. 96 p. [Tese — Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo] 100

MAGALDI, C.; AMATO NETO, V. & MONTEIRO, D.C.M. — Criptococose: a propósito de um caso de forma pulmonar isolada e de outro em associação com toxoplasmose adquirida. *R. Hosp. Clin.*, 19 (1): 19-32, jan./fev. 1964. 101

MAYRINK, W.; ARAÚJO, F.G. & PEREIRA, L.H. — Reação de Sabin-Feldman em crianças excepcionais. *Hospital*, 66 (1): 227-230, jun. 1964. 102

PEREIRA, J.M. & GONZAGA, M. — Toxoplasmose. *J. Pediat.*, 29 (11/12): 374-390, nov./dez. 1964. 103

RIBEIRO, R.M. — Achados eletrencefalográficos em pacientes com toxoplasmose. *Arq. Neuro-Psiq.*, 22 (2): 105-121, jun. 1964. 104

VERONESI, R. & CAMARGO, M. — Toxoplasmose adquirida. Considerações clínicas, terapêuticas e laboratoriais a propósito de 6 casos. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 6 (2): 75-81, mar./abr. 1964. 105

1965

AMATO NETO, V. — Importância médica da toxoplasmose. *R. Goiana Med.*, 11 (1/2): 63-67, jan./jun. 1965. 106

AMATO NETO, V. — Tratamento da toxoplasmose. *R. Goiana Med.*, 11 (1/2): 69-76, Jan./Jun. 1965. 107

- CAMARGO, M.E. — Preparation of microscopical slides to simplify immunofluorescence serological titrations. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 7 (1): 39-40, jan./fev. 1965. 108
- CAMARGO, M.E. — *Estudo comparativo das reações de Sabin-Feldman e de imunofluorescência indireta, para a toxoplasmose, em 1.000 soros humanos. Comportamento anômalo de alguns soros.* São Paulo, 1965, 54 p. [Tese inaug. — Faculdade de Medicina de São Paulo] 109
- DEL NEGRO, G. & CAMARGO, M.E. — Revisão sobre aspectos clínicos e laboratoriais da toxoplasmose. O problema da toxoplasmose ocular. *R. Assoc. Méd. Bras.*, 11 (7): 288-294, jul. 1965. 110
- FIALHO, S.A. & PARAGUASSU, L.C. — Terapêutica da toxoplasmose humana. *Trib. Med.*, 307: 16 e 21, set. 1965. 111
- FIALHO, S.A. & TEIXEIRA, I. — Toxoplasmose e toxoplasmina. Curso epidemiológico da doença. *Trib. Med.*, 307: 10-11 e 21, set. 1965. 112
- MACHADO, J.O.L. — Toxoplasmina no diagnóstico das uveítes. *R. UFERJ*, 1 (2): 147-158, 1965. 113
- MASSOLA, V.C. — Epidemiologia e transmissão da toxoplasmose. *B. Cient. Hosp. Serv. Publ. Est.*, 3 (1): 3-11, 1965. 114
- PEREIRA, L.H.; ARAÚJO, F.G. & MAYRINK, W. — Reações de Sabin-Feldman e de Wasserman em pacientes com uveíte. *Hospital*, 68 (2): 377-379, agô. 1965. 115
- SINTOMATOLOGIA atípica na toxoplasmose adquirida. *AM*, 1 (7): 37, out. 1965. 116
- 1966
- BARUZZI, R.G. & AMATO NETO, V. — Inquérito sorológico sumário para toxoplasmose, entre índios do Parque Nacional do Xingú. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 8 (6): 277-280, nov./dez. 1966. 117
- CAMARGO, M.E. — Comparative evaluation of toxoplasmosis indirect fluorescent and Sabin-Feldman dye tests in a thousand human sera. A few unexpected results. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 8 (2): 62-68, mar./abr. 1966. 118
- COSTA, A. de L. — Alterações nervosas e musculares da toxoplasmose. *Trib. Med.*, 320: 13, out. 1966. 119
- FIALHO, S.A. — Toxoplasmose. *Trib. Med.* 315: 38, maio, 1966. 120
- GIOVANNONI, M. — Toxoplasmose canina. *Arg. Biol. Tecnol.*, 12: 69-79, 1966. 121
- MACHADO, J.O.L. — Imunologia na toxoplasmose. *Trib. Med.*, 315: 30-32, maio, 1966. 122
- MACHADO, J.O.L.; SILVA, S. & GOMES, F.J.R. — Síntese de toxinas no parasitismo pelo *Toxoplasma gondii*. *Hospital*, 70 (1): 155-162, jul. 1966. 123
- MALOGOLOVKIN, I. — Toxoplasmose. *Brasil Med.*, 80 (2): 86-89, mar/abr. 1966. 124
- MINGOIA, Q. — Estrutura química e modo de ação de drogas antiparasitárias. *R. Fac. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo*, 4 (2): 145-174, jul./dez. 1966. 125
- SANTOS, N.R. dos — Inquérito sobre toxoplasmose e tripanossomíase realizado em Sobral e Viçosa (Ceará). *R. Med.*, 50: 182-189, 1966. 126
- VERONESI, R. & CAMARGO, M.E. — Toxoplasmose adquirida. Aspectos clínicos e laboratoriais. *J. Bras. Med.*, 10 (6): 519-527, jun. 1966. 127
- 1967
- AMATO NETO, V. — Comentários sobre o comportamento da reação de Sabin-Feldman em relação ao diagnóstico e controle de cura da toxoplasmose. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 1 (5): 231-241, set./out. 1967. 128
- AMATO NETO, V. — Toxoplasmose adquirida. *R. Goiana Med.*, 13 (1/2): 39-50, jan./jun. 1967. 129
- AMATO NETO, V.; RIVETTI, F.S. & MALHEIROS JR., O — Concomitância de casos de toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular, em habitação coletiva da cidade de São Paulo. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 9 (2): 73-78, mar./abril. 1967
- ARAÚJO, F.G. de & CONTI, O.C. — Toxoplasmose: estudo sorológico e oftalmológico em retardados mentais. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 9 (3): 125-128, maio/jun. 1967. 131
- MACHADO, J.O.L.; DANTAS, A.; SILVA, S. & GOMES, J.F.R. — Observações sobre a atividade do sulfametoxazol no tratamento da toxoplasmose. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 9 (5): 346-356, set./out. 1967. 132
- MACHADO, J.O.L.; SILVA, S. & GOMES, F.J.R. — Transmissão da toxoplasmose adquirida. *Hospital*, 71 (1): 123-135, jan. 1967. 133

- MACHADO, J.O.L.; SILVA, S.; PINHO, A.L. de & GOMES, F.J.R. — Forésia no mecanismo de transmissão da toxoplasmose adquirida. *Hospital*, 72 (4): 1161-1165, out. 1967. 134
- MAGALDI, C.; ELKIS, H.; COSCINA, A.L. & PATTOLI, D. — Epidemia de toxoplasmose no Centro Técnico da Aeronáutica (São José dos Campos). Observações clínicas, sorológicas e epidemiológicas preliminares. *R. Paul. Med.*, 70: 256-257, maio, 1967. [Resumo] 135
- MAGALDI, C.; ELKIS, H.; PATTOLI, D.; QUEIROZ, J.C. de; COSCINA, A.L. & FERREIRA, J.M. — Surto de toxoplasmose em um seminário de Bragança Paulista (Estado de São Paulo). Aspectos clínicos, sorológicos e epidemiológicos. *R. Saúde Publ.*, 1 (2): 141-171, dez. 1967. 136
- MANISSADJIAN, A.; PENNA, H. A. de O.; VAZ, F.A.C.; RAMOS, J.L.A.; BORGES, M.A.G. & SCHVARTSMAN, S. — Toxoplasmose adquirida em criança. Relato de 26 casos. *R. Assoc. Med. Bras.*, 13 (11): 397-405, nov. 1967. 137
- SCHLOGEL, F. — Ocorrência de toxoplasmose em cães suspeitos de raiva. [*R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 9 (5): 304-308, set./out. 1967. 138
- 1968
- ALMEIDA, M.L. de — Toxoplasmose e gravidez. *GO*, 2 (11): 38-48, nov. 1968. 139
- AMATO NETO, V. — Estudo sobre a reação de Sabin-Feldman executada com soro inativado. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 10 (4): 262-264, jul./ago. 1968. 140
- BARROS, S.S. & SANTOS, M.N. — Sobre um foco de toxoplasmose canina em Santa Maria, Rio Grande do Sul. *R. Med. Vet.*, 3 (3): 243-245, mar. 1968. 141
- BARUZZI, R.G. — Contribuição para o estudo epidemiológico da toxoplasmose. Levantamento sorológico em índios do Alto Xingú, Brasil Central, São Paulo, 1968. [Tese — Escola Paulista de Medicina] 142
- COUTINHO, S.G.; ANDRADE, C.M. de; LOPES, A.C.; CHIARINI, C. & FERREIRA, L.F. — Observações sobre a presença de anticorpos para *Toxoplasma Gondii* em cães da área suburbana do Rio de Janeiro. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 2 (6): 285-295, nov./dez. 1968. 143
- COUTINHO, S.G.; ANDRADE, C.M. de; LOPES, A.C. & FERREIRA, L.F. — Resultados da reação de Sabin e Feldman em soros de cães da área suburbana da Guanabara. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 2 (1): 39-40, jan./fev. 1968. [Resumo] 144
- GARCIA, A.G.P. — Congenital toxoplasmosis in successive sibs. *Arch. Dis. Child.*, 43 (232): 705-710, dec. 1968. 145
- GIORGI, W.; CAMPEDELLI FILHO, O. & AMARAL, V. do — Transmissão de toxoplasmose de coelho para o homem. Descrição de um caso. *Arq. Inst. Biol.*, 35 (2): 87-88, abr./jun. 1968. 146
- GUIMARAES, F.N.; GRYNBERG, N.; LAGE, H.A. & VENANCIO, I.A. — Reação indireta de anticorpos fluorescentes no diagnóstico da toxoplasmose. *J. Bras. Med.*, 15 (1): 89-93, jul. 1968. 147
- GUIMARAES, F.N.; VENANCIO, I.A.; LAGE, H.A. & GRYNBERG, N.F. — Diagnóstico de toxoplasma nos tecidos pela técnica da imunofluorescência. *Hospital*, 74 (6): 1943-1948, dez. 1968. 148
- LEVI, G.C.; HYAKUTAKE, S.; AMATO NETO, V. & CORREA, M.O.A. — Observações complementares sobre a presença do *Toxoplasma gondii* na saliva de pacientes com toxoplasmose. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 2 (6): 275-278, nov./dez. 1968. 149
- LEVI, G.C.; HYAKUTAKE, S.; AMATO NETO, V. & CORREA, M.O.A. — Presença de *Toxoplasma gondii* na saliva de pacientes com toxoplasmose. Eventual importância dessa verificação quanto a transmissão da doença. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 10 (1): 54-58, jan./fev. 1968. [Nota prévia] 150
- MACHADO, J.O.L.; MACHADO, M.E.L.; PINHO, A.L. de; SILVA, S. & GOMES, F.J.R. — Estudo sobre a viabilidade da transmissão da toxoplasmose por via vaginal. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 10 (6): 371-375, nov./dez. 1968. 151
- MACHADO, J.O.L.; PINHO, A.L. de, SILVA, S. & GOMES, F.J.R. — Indicação da proteína C reativa em casos clínicos de toxoplasmose e seu comportamento no critério de cura. *Hospital*, 73 (6): 1839-1845, jun. 1968. 152
- MACHADO, J.O.L.; PINHO, A.L. de, SILVA, S. & GOMES, F.J.R. — Transmissão e anticorpos congênicos em animais com placenta hemo-corial na toxoplasmose experimental. *Hospital*, 74 (1): 173-180, jul. 1968. 153
- MACHADO, J.O.L.; SILVA, S. & PINHO, A.L. de — Dados preliminares relativos ao stress na toxoplasmose crônica experimental. *Hospital*, 74 (6): 1903-1911, dez. 1968. 154

- NOURA, F.; LAISON, R. & SHAW, J.J. — Toxoplasmose em Belém, Pará, Brasil: isolamento de toxoplasma do sangue periférico de paciente febril. *R. Serv. Esp. Saúde Publ.*, 14 (1): 39-45, jul. 1968. 155
- RAMOS JR.; J.; PARISI, E.; CAMPANA, C.L.; BUBMAN, I.; BIANCHI, A.; DE BELLIS, N. & MENDEZ, A.J. — A consideração da toxoplasmose ganglionar no diagnóstico diferencial dos linfomas. *R. Paul. Med.*, 72 (4): 219, abr. 1968. [Resumo] 156
- REDNER, P. — A toxoplasmose. *R. Farm. Odont.*, 35 (332): 63-65, out. 1968. 157
- VERONESI, R. — Toxoplasmose e gravidez. *Ars Curan.*, 1 (8): 19-23, out. 1968. 158
- 1969
- AMARAL, V. do & MACRUZ, R. — *Toxoplasma gondii*. Isolamento de amostras a partir de diafragmas de suínos clinicamente saudáveis, abatidos em matadouros de São Paulo, Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, 36 (1): 47-54, 1969. 159
- AMATO NETO, V. — Caso fatal de pneumonia intersticial toxoplasmótica. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 11 (5): 377-381, set./out. 1969. 160
- AMATO NETO, V. — Tratamento da toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 3 (1): 18, jan./fev. 1969. [Resumo] 161
- AMATO NETO, V. & SILVA, Y.K. de O. — A febre como manifestação clínica da toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 3 (1): 30, jan./fev. 1969. [Resumo] 162
- AMATO NETO, V. & SILVA, Y.K. de O. — Toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular: manifestações clínicas correspondentes a 47 doentes. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 3 (1): 29, jan./fev. 1969. [Resumo] 163
- ASSIS, J.L. de; SCAFF, M. & BACHESCHI, L.A. — Aspectos neurológicos da toxoplasmose adquirida. Estudo clínico laboratorial e terapêutico de 8 casos. *Arq. Neuro-Psiqu.*, 27 (4): 271-283, dez. 1969. 164
- BARUZZI, R.G. — Contribuição para o estudo epidemiológico da toxoplasmose. Levantamento sorológico em índios do Alto Xingú, Brasil Central. *R. Inst. Adolfo Lutz*, 29/30: 105-139, 1969/70. 165
- COSTA SOBRINHO, V.M. da — Toxoplasmose. *R. Fac. Med. Univ. Fed. Ceará*, 9 (1): 35-38, jun. 1969. 166
- COUTINHO, S.G.; ANDRADE, C.M. de & FERREIRA, L.F. — Isolamento de *Toxoplasma gondii* de um doador de sangue, entre 602 estudados pela reação de imunofluorescência indireta para toxoplasmose. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 4 (supl.): 22, fev. 1969. [Resumo] 167
- COUTINHO, S.G.; ANDRADE, C.M. de & FERREIRA, L.F. — Observações preliminares sobre a infecção por *Toxoplasma gondii* em doadores de sangue no Estado da Guanabara. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 3 (1): 23, jan./fev. 1969. [Resumo] 168
- GARCIA, A. — Toxoplasmose. *Hospital*, 76 (4): 1185-1200, out. 1969. 169
- GIOVANNONI, M. — *Considerações gerais sobre o toxoplasma e toxoplasmose. Isolamento do agente etiológico e pesquisa de anticorpos em cães.* 1969. [Tese — Universidade Federal do Paraná] 170
- GOMES, M.C. de O. — Contribuição para a epidemiologia da toxoplasmose. Investigação em profissionais do Distrito sede do Município de Sorocaba. 1969. [Tese — Faculdade de Medicina de Sorocaba. Pontifícia Universidade Católica] 171
- GOMES, M.C. de O. — Epidemiologia da toxoplasmose: contacto domiciliar e profissional com animais. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 3 (1): 22, jan./fev. 1969. [Resumo] 172
- GUIMARAES, F.N.; GRYNBERG, N.; LAGE, H.A. & VENANCIO, I.A. — Como se faz a reação indireta de anticorpos fluorescentes no diagnóstico de toxoplasmose. *R. Bras. Patol. Clin.*, 5 (3): 23-27, jul./set. 1969. 173
- JAMRA, L.F.; DEANE, M.P. & GUIMARAES, E.C. — On the isolation of *Toxoplasma gondii* from human food of animal origin. Partial results in the city of São Paulo (Brazil). *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 11 (3): 169-176, maio/jun. 1969. 174
- LEVI, G.C.; AMATO NETO, V. & COSCINA, A.L. — Verificação da ocorrência simultânea de caso de toxoplasmose, doença entre moradores de um núcleo habitacional restrito da cidade de São Paulo. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 3 (1): 17, jan./fev. 1969. [Resumo] 175
- MAGALDI, C.; ELKIS, H.; PATTOLI, D. & COSCINA, A.L. — Epidemic of toxoplasmosis at a university in São José dos Campos, SP — Brazil. I. Clinical and serological data. *R. Latinoamer. Microbiol. Parasitol.*, 11 (1): 5-13, enero/mar. 1969. 176

- MARTINS, L.D.; HECKLER, A. & NICOLINI, J. — Estudo da incidência de toxoplasmose em sessenta casos de uveíte e seu tratamento. *R. Bras. Oftalmol.*, 28 (4): 329-331, dez. 1969. 177
- NERY, O. — Subdesenvolvimento e deficiência mental. Toxoplasmose congênita. *R. Bras. Deficien. Mental*, 4 (1/2): 17-22, jan./fev. 1969. 178
- SCHMIDT, S.; GALVAO, A.B.; FERNANDES, W.J. & OLIVEIRA, R.L. de — Do primeiro encontro do *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) em morcegos. *R. Goiana Med.*, 15 (4): 149-154, jul./dez. 1969. 179
- SILVA, L.A. & CARVALHO, O.A. de — Toxoplasmose com manifestações reumáticas. *Pediat. Prat.*, 40 (6): 197-200, jun. 1969. 180
- TAKEDA, A.K.; RASKIN, M. & DANEMANN, R. — Purificação de *Toxoplasma gondii* de exsudato peritoneal de camundongo, em coluna de algodão de nylon. *R. Inst. Adolfo Lutz*, 29/30: 51-55, 1969/70. 181
- 1970**
- AISENGART, O. & LERNER, H. — Imuno-fluorescência em toxoplasmose. *R. Bras. Patol. Clin.*, 6 (4): 12-14, out./dez. 1970. 182
- AMATO NETO, V. — Aspectos dermatológicos da toxoplasmose. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 4 (5): 343-348, set./out. 1970. 183
- AMATO NETO, V. — Mortalidade atribuível à toxoplasmose adquirida. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 4 (supl.): 42-43, fev. 1970. [Resumo] 184
- AMATO NETO, V. — A rápida aquisição de conhecimentos relativos à toxoplasmose. *R. Hosp. Clin.*, 25 (5): 285-287, set./out. 1970. 185
- AMATO NETO, V. — Transmissão da toxoplasmose. *R. Med. IAMSPE*, 1 (2): 41-42, abr./jun. 1970. 186
- AMATO NETO, V. & LEVI, G.C. — Ocorrência simultânea de casos de toxoplasmose. Doença entre moradores de um núcleo habitacional restrito da cidade de São Paulo. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 12 (1): 41-45, jan./fev. 1970. 187
- ARAÚJO, F.G. de — Anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em doadores de sangue. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 12 (2): 105-111, mar./abr. 1970. 188
- BARUZZI, R.G. — Contribution to the study of toxoplasmosis epidemiology. Serologic survey among the indians of the upper Xingu river, Central Brazil. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 12 (2): 93-104, mar./abr. 1970. 189
- BARUZZI, R.G.; DEANE, M.P.; KAMEYAMA, I.; PENTEADO JR., H. & GUIMARAES, E.C. — Inquérito para toxoplasmose em animais do Alto Xingu, Brasil Central. *R. Saúde Públ.*, 4 (2): 218-219, 1970. [Resumo] 190
- BORTOLETTO, M.L.; GIANINI, J.P. & AMATO NETO, V. — Estudo eletroencefalográfico relativo a pacientes com toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular. *R. Soc. Bras. Med. Trop.* 4 (supl.): 42, fev. 1970. 191
- COSTA, S.C.G. da; SILVA, A.M.; MARTINEZ BERNAOLA, N. & PEREIRA, N.M. — The problem of toxoplasmosis in Amphibia. I. Forms related to the "Dactylosoma" life cycle (Protozoa, Sporozoa). *Atas Soc. Biol. R. Janeiro*, 12 (supl.): 7-13, 1970. 192
- COSTA, S.C.G. da; SILVA, A.M.; MARTINEZ BERNAOLA, N. & PEREIRA, N.M. — The problem of toxoplasmosis in Amphibia. II. (Protozoa, Sporozoa). *R. Bras. Biol.*, 30 (3): 367-370, 1970. 193
- COSTA SOBRINHO, V.M. da — Toxoplasmose. *R. Bras. Patol. Clin.*, 6 (3): 34-36, jul./ago. 1970. 194
- COUTINHO, S.G. — Aplicação da técnica de coleta de sangue total em disco de papel para o diagnóstico da toxoplasmose pelas reações de imuno-fluorescência indireta e Sabin Feldman. *R. Soc. Bras. Med. Trop.* 4 (supl.): 21-22, 1970. [Resumo] 195
- COUTINHO, S.G.; ANDRADE, C.M. de; MALVAR, G.S. & FERREIRA, L.F. — Análise comparativa entre as sensibilidades da reação indireta de anticorpos fluorescentes e da reação de Sabin-Feldman na pesquisa de anticorpos séricos para toxoplasmose. *R. Soc. Bras. Med. Trop.* 4 (5): 315-325, set./out. 1970. 196
- COUTINHO, S.G.; OLIVEIRA, G. de & FERREIRA, L.F. — Resultados da reação de imuno-fluorescência indireta para toxoplasmose em crianças de 1 a 5 anos de idade residentes em um subúrbio do Rio de Janeiro. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 4 (supl.): 22-23, fev. 1970. [Resumo] 197
- FELDMAN, K.B.; AMATO NETO, V.; MENDONÇA, J.S. de; PEDRO, R. de J. & KONICHI, S.R. — Alterações oculares relativas a pacientes com toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 4 (supl.): 39, fev. 1970. [Resumo] 198

- FELDMAN, K.B.; AMATO NETO, V.; PEREIRA, C. de B.; BRITO, F.S. de; ATANES NETO, S.; MENDONÇA, J.S. de; PEDRO, R. de J. & KONICHI, S. — Estudo eletrocardiográfico relativo a pacientes com toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 4 (supl.): 40-41, fev. 1970. [Resumo] 199
- GOMES, M.C. de O. — Epidemiologia da toxoplasmose. Investigação em profissionais do distrito sede do Município de Sorocaba. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 12 (4): 266-271, jul./ago. 1970. 200
- GOMES, M.C. de O. — Epidemiologia da toxoplasmose. Contato com animais na profissão e no domicílio. *R. Assoc. Med. Bras.*, 16 (5): 141-146, maio, 1970. 201
- GOMES, M.C. de O. — Estado atual da toxoplasmose no Brasil. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 4 (2): 121-128, mar./abr. 1970. 202
- MOURA, A.; CHRISTAN, A. de; RISKALA, R.; OLESKO, T. & VIEIRA, A.A. — Miocardite toxoplasmica crônica. *An. Fac. Med. Univ. Fed. Paraná*, 13/14 (1/2): 13-32, 1970/71. 203
- NEGhme, A.R. — Toxoplasmose. Uma revisão das mais recentes contribuições para a sua biologia, clínica e epidemiologia. *Med. Cult.*, 25 (2): 105-115, jul./dez. 1970. 204
- NOHMI, N.; HYAKUTAKE, S. & SADATSUNE, T. — Toxoplasmose e Leptospirose. I. Inquérito sobre as suas incidências entre associados do Instituto de Previdência dos Servidores do Estado de Minas Gerais (IPSEMG) em amostras colhidas ao acaso. *R. Med. Inst. Prev. Serv. Est. M. Gerais*, 1 (1): 31-39, jan./jun. 1970. 205
- SILVA, C.T.F. & NOHMI, N. — Toxoplasmose. Rotina na clínica de doenças tropicais e infectuosas do Instituto de Previdência dos Servidores do Estado de Minas Gerais (IPSEMG). *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 4 (supl.): 30, fev. 1970. [Resumo] 206
- TEIXEIRA, H. & TEIXEIRA, P. — Toxoplasmose em gestantes normais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FARMÁCIA E BIOQUÍMICA, 9.º, Curitiba, 1970. *Anais*. Rio de Janeiro, Federação das Associações de Farmácia e Bioquímica do Brasil, 1970, p. 84. [Resumo] 207
- TRIBA, A. da C.; ALBANO, A.; MATTOS, A.F. de; GUEDES, J. da S.; BRIGADO, B.; CAMARGO, M.E.; CALY, M.L.; FARHAT, C.K.; FELIPPI, J. de & PEREIRA, V.G. — Possível relação epidemiológica da toxoplasmose à água. Referência de dois casos ocorridos após banho em coleção de água parada. *R. Assoc. Med. Bras.*, 16 (2): 47-50, fev. 1970. 208
- 1971
- ABUCHAM, R. & CUNHA, S.L. — Toxoplasmose congênita (Demonstração do *Toxoplasma gondii* no globo ocular do recém-nascido). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OFTALMOLOGIA, 16.º, Campinas, 1971. *Anais*. Campinas, Conselho Brasileiro de Oftalmologia, 1971, v. 1, p. 229-233. 209
- ALENCAR, A. & SCHAFFER, G. — Aspectos histopatológicos da encefalite aguda toxoplásmica (humana e experimental). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 69 (3): 463-487, 1971. 210
- ALVES FILHO, N.; AGOSTINI NETO, J.; FREITAS, M.L. de; MELO, E.V. de; MENDONÇA, L.S.P. de & FERREIRA, J.E. — Toxoplasmose congênita. Discussão e apresentação de 2 casos com lesões oculares. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PEDIATRIA, 17.º, Belo Horizonte, 1971. Sessões de Temas Livres. Belo Horizonte, 1971, p. 243. [Resumo] 211
- AMATO NETO, V. — Toxoplasmose. *Pediat. Mod.*, 6 (7): 6-28, out. 1971. 212
- AMATO NETO, V. — Toxoplasmose. *R. Goiana Med.*, 17 (3/4): 181-199, jul./dez. 1971. 213
- AMATO NETO, V. — Toxoplasmose: aspectos clínicos, diagnósticos, terapêuticos e profiláticos. *R. Paul. Med.*, 77 (4): 151-156, abr. 1971, e *Ars Curan.*, 4 (4): 54-64, jun. 1971. 214
- AREAS, M.J.J. — Corio retinite e toxoplasmose. *Arq. Bras. Oftalm.*, 34 (3): 129-145, maio/jun. 1971. 215
- BARBOZA, H.S. & BITTENCOURT, A.L. — Toxoplasmose congênita. Primeiros casos observados na Bahia. *J. Bras. Ginecol.*, 72 (2): 139, agô. 1971. [Resumo] 216
- BITTENCOURT, J.P.M. — Toxoplasmose. *R. Med. Est. Guanabara*, 38 (1): 54-58, 1971. 217
- CASTILHO, E.A. — *Toxoplasmose numa análise de regressão múltipla sobre insuficiência ponderal no recém-nascido*. São Paulo, 1971. 84 p. [Tese inaug. — Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo] 218
- COSTA, S.C.G. da & PEREIRA, N. da M. — *Lankesterella Alencari* n. sp. a toxoplasma like organism in the central nervous system of Amphibia (Protozoa, Sporozoa). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 69 (3): 397-411, 1971. 219

- COSTA, S.C.G. da; PEREIRA, N. da M. & MARTINEZ BERNAOLA, N. — The problem of toxoplasmosis in Amphibia. III. A protozoon in the central nervous system of *Leptodactylus ocellatus* (Protozoa, Sporozoa). *Atas Soc. Biol. R. Janeiro*, 14 (3/4): 45-48, 1971. 220
- COSTA SOBRINHO, V.M. da; COSTA, M.C.S. & RIBEIRO, T.A. — Contribuição ao estudo da epidemiologia da toxoplasmose no Ceará. I. Maranguape. *R. Soc. Bras. Malariol. Doenç. Trop.*, 23 (1/4): 19-27, jan./dez. 1971. 221
- DEANE, M.P.; SOGORB, S.F.; JAMRA, L.F. & GUIMARÃES, E.C. — On the gametogenic cycle of *Toxoplasma gondii*. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 13 (2): 110-113, mar./abr. 1971. 222
- DELASCIO, D. & PORTO, G. — Aspectos obstétricos da toxoplasmose. *Ars Curan.*, 4 (4): 66-74, jun. 1971. 223
- FERREIRA, C.A. — Zoonoses e abortamento repetido. (Revisão em particular da brucelose e da toxoplasmose). *Ginecol. Bras.*, 3 (1): 48-60, jan./fev. 1971. 224
- GUIMARÃES, F.N. & FRANKEN, A.J. — Toxoplasmose em primatas não humanos. II: Tentativas de infecções experimentais em *Macaca mulatta*, *Cebus apella* e *Callithrix jacchus* e pesquisa de anticorpos em várias espécies de *platyrrhynus*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 69 (2): 97-111, 1971. 225
- GUIMARÃES, F.N.; FRANKEN, A.J. & CHAGAS, W.A. — Toxoplasmose em primatas não humanos. I. Infecções naturais em *Macaca mulatta* e *Cebus apella*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 69 (2): 77-87, 1971. 226
- GUITTI, J.C. dos S.; BARTKEVICH, S.; LION, M.F.; KOPEL, L. & MATTAR, G. — Miocardite de provável etiologia toxoplásmica. *Pediat. Prat.*, 42 (7/8): 111-120, jul./agô. 1971. 227
- HYAKUTAKE, S. & CORREA, M.O.A. — Incidência de reagentes à prova da imunofluorescência indireta para o diagnóstico da toxoplasmose, entre doadores de sangue em São Paulo. *R. Inst. Adolfo Lutz*, 31: 27-30, 1971. 228
- JAMRA, L.F.; DEANE, M.P.; MION, D. & GUIMARÃES, E.C. — Isolation of *Toxoplasma gondii* from human tonsils. *R. Bras. Pesq. Med. Biol.*, 4 (1/2): 97-102, jan./abr. 1971. 229
- LEITE, I.C. — Toxoplasma e toxoplasmose. *B. Centro Est. Sec. Assist. Soc. Minist. Just.*, 4: 45-51, 1971. 230
- MATTOS, R.B. — Toxoplasmose ocular. *Ars Curan.*, 4: 76-78, 1971. 231
- MORETTO, R.; BARCELLOS, J. M.; MACHADO, O.; FERREIRA FILHO, A. & REZENDE, J. de — Toxoplasmose e gravidez. (Observações de 100 gestantes e seus conceptos). *J. Bras. Ginecol.*, 72 (1): 15-39, jul. 1971. 232
- NEGhme, A. — O diagnóstico de laboratório e a clínica da toxoplasmose. *Med. Cult.*, 26 (1): 15-16, jan./jun. 1971. 233
- NEGhme, A.R. — Toxoplasmose: uma revisão das mais recentes contribuições para sua biologia e epidemiologia. *Ars Curan.*, 4 (4): 38-52, jun. 1971. 234
- PASTERNAK, J.; AMATO NETO, V. & LEVI, G.C. — Estudo prospectivo sobre a concomitância de toxoplasmose adquirida e doenças malignas linforeticulo-endoteliais. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 13 (4): 297-301, jul./agô. 1971. 235
- REDNER, P. — O ciclo evolutivo do toxoplasma e a profilaxia da toxoplasmose. *R. Fac. Farm. Odont. Araraquara*, 5 (2): 163-167, 1971. 236
- TONELLI, E.; ARAÚJO, F.G. & OREFICE, F. — Importância da reação de Sabin Feldman em familiares de pacientes com toxoplasmose adquirida. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PEDIATRIA, 17.º, Belo Horizonte, 1971. Sessões de Temas Livres. Belo Horizonte, 1971. p. 285-286. [Resumo] 237
- TONELLI, E.; ARAÚJO, F.G. de; OREFICE, F. & BRANDÃO, L.L. — diagnóstico da toxoplasmose. Infecção em acadêmicos de medicina, pela reação de imunofluorescência indireta. *R. Assoc. Med. M. Gerais*, 22 (2): 63-66, jun. 1971. 238
- 1972
- AMATO NETO, V. — Como eu trato toxoplasmose. *Atual. Med.*, 7 (12): 3-5, mar. 1972. 239
- AMATO NETO, V. — Considerações sobre surtos de toxoplasmose adquirida e relato da verificação de outra ocorrência dessa natureza em estabelecimento industrial do Estado de São Paulo. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 14 (3): 207-211, maio/jun. 1972. 240
- AMATO NETO, V.; CAMARGO, M.E.; MENDONÇA, J.S. de; LEVI G.C. & OSELKA, G.W. Observações sobre a pesquisa de anticorpos IgM antitoxoplasma, por imunofluorescência, no soro de pacientes com toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 14 (4): 264-272, jul./agô. 1972. 241

- AMATO NETO, V.; COUTINHO, J. de O.; PAS-
TERNAK, J. & SILVA, Y.K. de O. — Pes-
quisa de *Toxoplasma gondii* na medula óssea
de pacientes com toxoplasmose adquirida:
valor diagnóstico. *R. Inst. Med. Trop. S.
Paulo*, 14 (5): 326-329, set./out. 1972. 242
- AMATO NETO, V.; OSELKA, G.W.; LEVI, G.C.
& CAMARGO, M.E. — Pesquisa de anti-
corpos IgM anti-toxoplasma por imunofluo-
rescência no soro de pacientes com toxo-
plasmose adquirida. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*,
6 (6): 325, 1972. [Resumo] 243
- CAMARGO, M.E.; LESER, P.G. & ROCCA, A. —
Rheumatoid factors as a cause for false po-
sitive IgM anti-toxoplasma fluorescent tests.
A technique for specific results. *R. Inst.
Med. Trop. S. Paulo*, 14 (5): 310-313, set./
out. 1972. 244
- CAMPOS, R. — Terapêutica da toxoplasmose
aguda experimental pela sulfametopirazina.
F. Med. 65 (5): 949-951, nov. 1972. 245
- CHAGAS, A.J. das, TONELLI, E.; LAGO, E.P.
& CHIARI, C. de A. — Inquérito sorológico
para toxoplasmose, infecção em crianças,
pelo método da imunofluorescência indireta.
In: UFMG Pesquisas. Belo Horizonte, Uni-
versidade Federal de Minas Gerais, 1972.
p. 102. [Nota Prévia] 246
- CORREA, M.O.A.; HYAKUTAKE, S. & TOGNO-
LI, J.F. — Incidência de reagentes à prova
de imunofluorescência indireta para o diag-
nóstico da toxoplasmose entre escolares do
município de Presidente Prudente. *R. Inst.
Adolfo Lutz*, 32: 41-46, 1972. 247
- FERNANDES, W.J. & BARBOSA, W. — Toxo-
plasmose em Goiás. Comparação dos resul-
tados da reação de Sabin-Feldman em in-
vestigação clínica e epidemiológica. *R. Patol.
Trop.*, 1 (1) 29-38, jan./mar. 1972. 248
- FERNANDES, W.J. & BARBOSA, W. — Toxo-
plasmose: notas sobre sua ocorrência em
animais domésticos em Goiânia (1970).
R. Patol. Trop., 1 (2): 259-265, abr./jun.
1972. 249
- FERNANDES, W.J.; BARBOSA, W.; CEVA, G.
H.D. & OLIVEIRA, R.L. de — Estudo pre-
liminar sobre epidemiologia da toxoplasmose
em Goiás. Investigação pela reação de Sabin-
Feldman e toxoplasmína, em bairros de
Goiânia. *R. Patol. Trop.*, 2 (1): 267-276,
abr./jun. 1972. 250
- FERNANDES, W.J.; BARBOSA, W.; OLIVEIRA,
R.L. de; MACHADO, A. de J.; GUERRA,
H. de A.; EVANGELISTA, S. & CEVA, G.H.D.
— Toxoplasmose em crianças excepcionais
em Goiás (1969). *R. Patol. Trop.*, 1 (1): 39-
44, jan./mar. 1972. 251
- HUGGINS, D. — Toxoplasmose adquirida, forma
linfoglândular. Relato de 22 casos. *R. Soc.
Bras. Med. Trop.*, 6 (1): 27-33, jan./fev. 1972. 252
- HUGGINS, D. — Toxoplasmose ganglionar.
J. Bras. Med. 23 (5): 74-84, nov. 1972. 253
- KIRCHNER, E. & COTRIM, J.X. — Immunolo-
gical response to toxoplasmosis in population
groups of the State of São Paulo, Brazil, as
evaluated by the distribution of serum titers
in the dye-test. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*,
14 (1): 33-50, jan./fev. 1972. 254
- MEYER, H. & MUSACCHIO, M. de O. — Micro-
cinematografia do *Toxoplasma gondii* em
culturas de tecido. *An. Acad. Bras. Cien.*,
44 (3/4): 583, dez. 1972. [Resumo] 255
- MEYER, H. & SOUZA, W. de — Estudo ultra-
microscópico de *Toxoplasma gondii* em cul-
turas de tecidos. *An. Acad. Bras. Cien.*, 44
(3/4). 584, dez. 1972. [Resumo] 256
- SOGORB, F.; JAMRA, L.F.; GUIMARÃES, E.C.
& DEANE, M.P. — Toxoplasmose espontâ-
nea em animais domésticos e silvestres, em
São Paulo. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 14
(4): 314-320, set./out. 1972. 257
- SOUZA, W. de — Mise en evidence et structure
du système microtubulaire de *Toxoplasma
gondii*. *C. R. Acad. Sci. Ser. D.*, 275 (25):
2899-2901, dec. 1972. 258
- SOUZA, W. de — Sobre a evidencição de mi-
crotúbulos em *Toxoplasma gondii*. *An. Acad.
Bras. Cienc.*, 44 (3/4): 585, dez. 1972. ([Re-
sumo] 259
- TAKEDA, A.K. — *Contribuição ao estudo imu-
nológico do Toxoplasma gondii*. São Paulo,
1927. 105 p. [Tese — Faculdade de Medici-
na da Universidade de São Paulo] 260
- 1973
- AMATO NETO, V. — Implicações médico-sociais
dos resultados de provas sorológicas para
diagnóstico da toxoplasmose. *R. Paul. Med.*,
81 (6): 357-360, jun. 1973. 261
- BARBOZA, W.; FERNANDES, W.J.; PINHEIRO,
Z.B.; TEIXEIRA, A.A. & OLIVEIRA, G.S.C.
— Coccídios encontrados em felinos (*Felis
catus domestica*) de Goiânia. Estudo de sua
biomorfologia. *R. Patol. Trop.*, 2 (3): 311-
319, jul./set. 1973. 262

- CAT. I.; MARINONI, L.P.; RACHID, A.; BOARETE, A.C.; COSTA, O. & GIRALDI, D.J. — "Falsa reação positiva para toxoplasmose" na artrite reumatóide. *J. Pediat.*, 38 (1/2): 15-20, jan./fev., 1973. 263
- GUIMARAES, F.N. & LAGE, H.A. — Infecção "per os" de gatos com formas vegetativas de "*Toxoplasma gondii*" Nicolle & Manceaux, 1909, sem produção de oocistos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 71 (1/2): 67-73, 1973. 264
- GUIMARAES, F.N. & LAGE, H.A. — Produção irregular e inconstante de oocistos pela administração de cistos de "*Toxoplasma gondii*" Nicolle & Manceaux, 1909, em gatos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 71 (1/2): 157-167, 1973. 265
- GUIMARAES, J.X.; KUSCHNAROFF, T.M.; SILVA, L.G.A. da & PESSOA, M.C. — Surto de toxoplasmose: doença na vigência de doença infecciosa aguda. In: Programação e Resumo de Temas Livres do 9.º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Fortaleza, 1973. [Resumo n.º 71]. 266
- HUGGINS, D. — Toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular. Relato de 22 casos. *An. Inst. Hig. Med. Trop.*, 1 (1/4): 25-30, 1973. 267
- HUGGINS, D.; CARVALHO, J.A. de & MACIEL, M.F. — Investigação sorológica para o diagnóstico da toxoplasmose em crianças excepcionais de Recife. In: Programação e Resumos de Temas Livres do 9.º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Fortaleza, 1973. [Resumo n.º 75]. 268
- HYAKUTAKE, S.; PEREZ, M.D. & STARLING, C.B. — Prevalência de anticorpos antitoxoplasmose entre parturientes e respectivos recém-nascidos no município de Presidente Bernardes, Estado de São Paulo. *R. Patol. Trop.*, 2 (4): 427-432, out./dez. 1973. 269
- NOHMI, N.; HYAKUTAKE, S.; SILVA, E.L. da; ALENCAR, O.M. de & CORREA, M.O.A. — Toxoplasmose. Inquéritos efetuados em Macapá, Território Federal do Amapá, Brasil, 1971. *B. Hosp. Esc. S. Camilo e S. Luis*, 6: 29-30, jan./dez. 1973. [Resumo] 270
- NOHMI, N.; RIOS, M.; TARTAGLIA, D.; HYAKUTAKE, S. & CORREA, M.O.A. — Toxoplasmose: frequência da infecção por *Toxoplasma gondii* em parturientes e respectivos recém-nascidos. In: Programação e Resumos de Temas Livres do 9.º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Fortaleza, 1973. [Resumo n.º 74]. 271
- OLIVEIRA, G.S.C. de; BARBOSA, W. & SILVA, A.L. da — Isosporose humana em Goiás. I. Dados epidemiológicos, clínicos e imunológicos. *R. Patol. Trop.*, 2 (4): 387-395, out./dez. 1973. 272
- SAMPAIO, C.E.; CORREA, M.O.A.; HYAKUTAKE, S. & NOHMI, N. — Toxoplasmose: estudo da incidência em diferentes clínicas. In: Programação e Resumo de Temas Livres do 9.º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Fortaleza, 1973. [Resumo n.º 77]. 273
- SOGORB, F.; JAMRA, L.F.; GUIMARAES, E.C. & DEANE, M.P. — Experimental feline toxoplasmosis. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 15 (3): 131-138, maio/jun. 1973. 274
- STARLING, C.B.; PEREZ, M.D. & HYAKUTAKE, S. — Incidência de reagentes à prova de imunofluorescência indireta para o diagnóstico da toxoplasmose entre gestantes do município de Presidente Bernardes, S. Paulo. *R. Farm. Bioquim. Univ. S. Paulo*, 11 (2): 227-233, jul./dez. 1973. 275
- TAKEDA, A.K.; BERGAMIN, R.A.; UEDA, M. & SCALABRINI, L.G.P. — Comparação entre os antígenos usados nas reações de hemaglutinação, fixação de complemento e imunofluorescência para toxoplasmose. In: Programação e Resumo de Temas Livres do 9.º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Fortaleza, 1973. [Resumo n.º 79]. 276
- TIRIBA, A. da C.; CALY, M.L.; OLIVEIRA, F.A. do & GUIMARAES, J.X. — Toxoplasmose: problemas antepostos diante da indicação ou não do tratamento. In: Programação e Resumo de Temas Livres do 9.º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Fortaleza, 1973. [Resumo n.º 72]. 277
- UNES, S. — Toxoplasmose: correlação entre títulos de anticorpos fluorescentes no soro e no líquido céfalo-raquidiano. *R. Patol. Trop.*, 2 (3): 321-327, jul./set. 1973. 278
- 1974
- AMATO NETO, V.; CAMARGO, M.E. & COSTA, A.C.T. da — Estudo comparativo entre resultados de reações de Sabin-Feldman e de imunofluorescência indireta para o diagnóstico da toxoplasmose efetuados com soros e líquidos ascíticos. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 16 (3): 135-139, maio/jun. 1974. 279
- AVILA, C.A. de; PASTERNAK, J.; MENDONÇA, J.S. & AMATO NETO, V. — Observações sobre o comportamento do teste do "Nitroblue Tetrazolium" relativamente à toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 8 (4): 203-207, jul./ago. 1974. 280

- CASTRO, I. de O.; SCHMAL, M.E.; FERNANDES, F.O.; IERVOLINO, A.C.L.; MAGALHAES, S.M.T. & ALMEIDA, C. de — Toxoplasmose: estudo de 4 casos com quadro clínico, laboratorial e histopatológico compatível com hepatite aguda. In: Programa Científico e Social e Sumários das Comunicações em Sessões de Temas Livres do 10.^o Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Curitiba, 1974. [Resumo n.^o 56]. 281
- CHIARI, C. de A.; KAVINSKY, L. & LIMA, J.D. — Lesões oculares em gatos domésticos com toxoplasmose. *Arq. Esc. Vet. Univ. Fed. M. Gerais*, 26 (3): 357-364, 1974. 282
- CIMERMAN, B.; COTRIM, J.X. & CAMPOS, R. — Estudo comparativo entre as reações de Sabin-Feldman e da aglutinação do latex para a toxoplasmose. In: Programa Científico e Social e Sumários das Comunicações em Sessões de Temas Livres do 10.^o Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Curitiba, 1974. [Resumo n.^o 61]. 283
- COUTINHO, S.G.; RAMOS FILHO, C. & FRANKEN, A.M.J. — Dados preliminares sobre duas cepas de *Toxoplasma gondii* isolados de casos humanos de toxoplasmose linfoglandular. In: Programa Científico e Social e Sumários de Comunicações em Sessões de Temas Livres do 10.^o Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Curitiba, 1974. [Resumo n.^o 63]. 284
- GIOVANNONI, M.; BUSSETI, E.T. & COSTA, M.L. — *Toxoplasma gondii* e toxoplasmose. Bibliografia brasileira (1908-1974). *Acta Biol. Paranaense*, 3 (1/4): 133-158, 1974. 285
- GOMES, M.C. de O.; VALENTE, M.C. & PRIMO, J.C.N. — Investigação sorológica para toxoplasmose em doentes mentais. *R. Assoc. Med. Bras.*, 20 (8): 287-289, agô. 1974. 286
- HALLAK, K.A. — Um caso de toxoplasmose de localização muscular. In: Programa Científico e Social e Sumários das Comunicações em Sessões de Temas Livres do 10.^o Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Curitiba, 1974. [Resumo n.^o 58]. 287
- HUGGINS, D.; PEREIRA, G.J.M.; SÁ, B.; FLORENCIO, M. & CARVALHO, J.A. — Investigação sorológica para o diagnóstico da toxoplasmose em patologia obstétrica (abortamentos, nati-mortos, prematuros, hidrocefalia, etc.). In: Programa Científico e Social e Sumários das Comunicações em Sessões Livres do 10.^o Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Curitiba, 1974. [Resumo n.^o 55]. 288
- ISHIZUKA, M.M.; MIGUEL, O. & BROGLIATO, D.F. — Prevalência de anticorpos anti-toxo-de Sabin-Feldman e imunofluorescência indireta para a avaliação de anticorpos anti-toxoplasma em soro de cães. *R. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 11: 127-132, 1974. 289
- ISHIZUKA, M.M.; MIGUEL, O. & BROGLIATO, D.F. — Prevalência de anticorpos anti-toxoplasma em soros de cães do município de São Paulo. *R. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 11: 115-125, 1974. 290
- ISHIZUKA, M.M.; MIGUEL, O. & BROGLIATO, D.F. — Estudo comparativo das provas de Sabin-Feldman (SF) em imunofluorescência indireta (IFI) com a hemaglutinação (HA) para a avaliação de anticorpos anti-toxoplasma em soros de cães. *R. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 11: 133-138, 1974. 291
- LESER, P.G.; CAMARGO, M.E. & GUARNIERI, D.E. — Reação sorológica de imunofluorescência para toxoplasmose: identificação de anticorpos responsáveis pela coloração "polar" e técnica simples para sua remoção. In: Programa Científico e Social e Sumários das Comunicações em Sessões de Temas Livres do 10.^o Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Curitiba, 1974. [Resumo n.^o 54]. 292
- MATTOS, C.A.; TELLES, C.E.V. & AMATO NETO, V. — Análise radiológica de caráter retrospectivo de alterações pulmonares atribuíveis à toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular. In: Programa Científico e Social e Sumários das Comunicações em Sessões de Temas Livres do 10.^o Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Curitiba, 1974. [Resumo n.^o 57]. 293
- MENDONÇA, J.S. de; AMATO NETO, V.; CAMARGO, M.E. & AVILA, C.A. de — Tratamento da toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular: observações relativas ao emprego de três diferentes procedimentos. In: Programa Científico e Social e Sumários das Comunicações em Sessões de Temas Livres do 10.^o Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Curitiba, 1974. [Resumo n.^o 62]. 294
- MEYER, H. & MUSACCHIO, M. de O. — *Toxoplasma gondii* in tissue cultures. A microcinematographic study in phase contrast. (Research note). *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 16 (1): 7-9, jan./fev. 1974. 295
- SANT'ANA, I.B. & HYAKUTAKE, S. — Toxoplasmose no Rio Grande do Norte: inquérito preliminar. *R. Patol. Trop.*, 3 (2): 127-133, abr./jun. 1974. 296

- SOUZA, W. de — Aspectos ultraestruturais do processo de divisão do *Toxoplasma gondii*. *R. Soc. Bras. Med. Trop.*, 8 (1): 45-65, jan./fev. 1974. 297
- SOUZA, W. de — Fine structure of the conoid of *Toxoplasma gondii*. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 16 (1): 32-38, jan./fev. 1974. 298
- STURM, J.A. & PEREIRA, M.G.L. — Comparação entre os métodos da imunofluorescência indireta total (IF) e aglutinação direta (AD) na pesquisa de anticorpos para *Toxoplasma gondii*. *R. Bras. Patol. Clin.*, 10 (4): 129-135, out./dez. 1974. 299
- YONEDA, S.; CARVALHO, R.P. de S. & CASTELANI, B.R. — Synthesis of pyrimidic base by intracellular forms of *Toxoplasma gondii* in cell culture. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 16 (6): 328-331, nov./dez. 1974. 300
- 1975
- AMATO NETO, V.; CAMARGO, M.E.; SILVA, L.J. da & ROCCA, A. — Análise da sensibilidade do "aglutinoteste" para o diagnóstico da toxoplasmose. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 17 (5): 277-282, set./out. 1975. 301
- BARROS, G.C.; SESSA, P.A. & BARROS, R.C.G. — Toxoplasmose em acadêmicos de medicina. *Cien. Cult.* 27 (supl.): 529, jul. 1975. [Resumo]. 302
- BARROS, R.C.G.; MATTOS, E.A.; BARROS, G.C. & SESSA, P.A. — Inquérito preliminar sobre doença de Chagas, toxoplasmose e calazar no Município de Castelo, Espírito Santo. *Cien. Cult.*, 27 (supl.): 529, jul. 1975. [Resumo] 303
- CAMARGO, M.E. — Diagnóstico sorológico da toxoplasmose na gravidez. *R. Assoc. Med. Bras.*, 21 (11): 341-344, nov. 1975. 304
- COUTINHO, S.G.; MENDONÇA, L.R.M. & RAMOS FILHO, C. — Estudo da virulência para camundongos de quatro amostras de *Toxoplasma gondii* isolados de casos humanos. [Apresentado ao Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 11.º, Rio de Janeiro, 1975] 305
- DELLA NEGRA, M.; SILVEIRA, L.; MILSTEIN, T.K.; BERGAMIN, R.A.; HIROBASSI, N.S. & TAKEDA, A.K. — Resposta humoral, teste de inibição de migração de macrófagos e intradermo-reação em pacientes com suspeita de toxoplasmose. [Apresentado ao Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 11.º, Rio de Janeiro, 1975]. 306
- FARIA, M. de A.S. & GAZAL, S. — Prevalência de infecção por *Toxoplasma* em crianças com síndromes neurológicas. [Apresentado ao Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 11.º, Rio de Janeiro, 1975] 307
- GOMES, U.A.; TERUEL, J.R.; FERRIOLI FILHO, F. & NOGUEIRA, J.L. — Estudo comparativo das frequências de infecção por *Toxoplasma gondii* nas zonas urbana e rural. *R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 17 (6): 355-360, nov./dez. 1975. 308
- GONZAGA, M.A.G.; RAPOSO, G.M.; ALVES, M.A.C.; MARQUES, A.M. & HENRIQUES, M.E.G. — Toxoplasmose. Aspectos médicos e laboratoriais. [Apresentado ao Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 11.º, Rio de Janeiro, 1975] 309
- LOMAR, A.V.; PAULA, A.B. de; MIZIARA, A.M.; ALMEIDA, C.; TIRIBA, A. da C. & TAKEDA, A.K. — Toxoplasmose: doença em pacientes de anemia falciforme. [Apresentado ao Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 11.º, Rio de Janeiro, 1975] 310
- MENDONÇA, J.S. de; AMATO NETO, V.; RODRIGUES, E.A.C.; ANDRADE, J.G.; SADO, K. & ZANINI, L.A. — Semelhança clínico-hematológica da toxoplasmose aguda com a febre tifóide. [Apresentado ao Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 11.º, Rio de Janeiro, 1975] 311
- SANT'ANA, I.B. de A.B. & HYAKUTAKE, S. — Prevalência de anticorpos anti *Toxoplasma gondii* em doadores de sangue de Natal. R.G.N. [Apresentado ao Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 11.º, Rio de Janeiro, 1975] 312
- SESSA, P.A.; BARROS, G.C. & BARROS, R.C.G. — Toxoplasmose em escolares da zona rural do Estado do Espírito Santo. *Cien. Cult.*, 27 (supl.): 529, jul. 1975. [Resumo] 313

ABREVIATURAS DOS PERIÓDICOS INDEXADOS

- Acta Biol. Paranaense*
ACTA BIOLÓGICA PARANAENSE, Curitiba, PR.
- Acta Med.*
ACTA MÉDICA, Rio de Janeiro, GB
- AM*
AM: revista de atualidades médicas, São Paulo, SP
- An. Acad. Bras. Cien.*
ANAIAS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS, Rio de Janeiro, GB
- An. Bras. Ginecol.*
ANAIAS BRASILEIROS DE GINECOLOGIA, Rio de Janeiro, GB
- An. Fac. Med. Univ. Fed. Paraná*
ANAIAS DA FACULDADE DE MEDICINA, UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, Curitiba, PR
- An. Inst. Hig. Med. Trop.*
ANAIAS DO INSTITUTO DE HIGIENE E MEDICINA TROPICAL, Lisboa, Portugal
- An. Paul. Med. Cir.*
ANAIAS PAULISTA DE MEDICINA E CIRURGIA, São Paulo, SP
- Arch. Dis. Child.*
ARCHIVES OF DISEASES IN CHILDHOOD, London, Inglaterra
- Arch. Ophthalm.*
ARCHIVES OF OPHTHALMOLOGY, Chicago, Ill.
- Arq. Biol.*
ARQUIVOS DE BIOLOGIA, São Paulo, SP
- Arq. Biol. Tecnol.*
ARQUIVOS DE BIOLOGIA E TECNOLOGIA, Curitiba, PR
- Arq. Bras. Oftalm.*
ARQUIVOS BRASILEIROS DE OFTALMOLOGIA, São Paulo, SP
- Arq. Esc. Sup. Vet.*
ARQUIVOS DA ESCOLA SUPERIOR DE VETERINÁRIA, Belo Horizonte, MG
- Arq. Esc. Vet. Univ. Fed. M. Gerais*
ARQUIVOS DA ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, Belo Horizonte, MG
- Arq. Hig. Saúde Publ.*
ARQUIVOS DE HIGIENE E SAÚDE PÚBLICA, São Paulo, SP
- Arq. Inst. Biol.*
ARQUIVOS DO INSTITUTO BIOLÓGICO, São Paulo, SP
- Arq. Inst. Penido Burnier*
ARQUIVOS DO INSTITUTO PENIDO BURNIER, Campinas, SP
- Arq. Neuro-Psiq.*
ARQUIVOS DE NEURO-PSIQUIATRIA, São Paulo, SP
- Ars Curan.*
ARS CURANDI, São Paulo, SP
- Atas Soc. Biol. R. Janeiro*
ATAS DA SOCIEDADE DE BIOLOGIA DO RIO JANEIRO, Rio de Janeiro, GB
- Atual. Med.*
ATUALIDADES MÉDICAS, São Paulo, SP
- B. Centro Est. Fund. Clara Basbaum*
BOLETIM DO CENTRO DE ESTUDOS DA FUNDAÇÃO CLARA BASBAUM, Rio de Janeiro, GB
- B. Centro Est. Sec. Assist. Soc. Minist. Just.*
BOLETIM DO CENTRO DE ESTUDOS DA SEÇÃO DE ASSISTÊNCIA MÉDICA E SOCIAL, MINISTÉRIO DA JUSTIÇA.
- B. Cient. Hosp. Serv. Est.*
BOLETIM CIENTÍFICO, HOSPITAL DO SERVIDOR PÚBLICO ESTADUAL, São Paulo, SP.
- B. Hosp. Esc. S. Camilo e S. Luis*
BOLETIM DO HOSPITAL ESCOLA SÃO CAMILO E SÃO LUIS, Macapá, Território Federal do Amapá.
- B. Inst. Puer.*
BOLETIM DO INSTITUTO DE PUERICULTURA, Rio de Janeiro, GB
- B. Mem. Soc. Franç. Ophthalm.*
BULLETINS ET MEMOIRES DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE D'OPHTALMOLOGIE, Paris, França.

- B. Soc. Paul. Med. Vet.*
BOLETIM DA SOCIEDADE PAULISTA DE
MEDICINA VETERINÁRIA, São Paulo, SP
- B. Soc. Pathol. Exot.*
BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ DE PATHOLO-
GIE EXOTIQUE ET DE SES FILIALES, Paris,
França
- Biológico*
O BIOLÓGICO, São Paulo, SP
- Bras. Med.*
BRASIL MÉDICO, Rio de Janeiro, GB
- C. R. Acad. Sci. Ser. D.*
COMPTES RENDUS HEBDOMADAIRES DES
SEANCES DE L'ACADEMIE DES SCIENCES.
D: SCIENCES NATURALLES, Paris, França
- C. R. Soc. Biol.*
COMPTES RENDUS DES SEANCES DE LA
SOCIÉTÉ DE BIOLOGIE ET DE SES FILIA-
LES, Paris, França
- Cien. Cult.*
CIÊNCIA E CULTURA, São Paulo, SP
- F. Med.*
FOLHA MÉDICA, Rio de Janeiro, GB
- Ginecol. Bras.*
GINECOLOGIA BRASILEIRA, Rio de Janei-
ro, GB
- GO*
GO: revista de atualização em ginecologia e
obstetrícia, São Paulo
- Hospital*
HOSPITAL, Rio de Janeiro, GB
- J. Bras. Ginecol.*
JORNAL BRASILEIRO DE GINECOLOGIA,
Rio de Janeiro, GB
- J. Bras. Med.*
JORNAL BRASILEIRO DE MEDICINA, Rio
de Janeiro, GB
- J. Bras. Neurol.*
JORNAL BRASILEIRO DE NEUROLOGIA,
Rio de Janeiro, GB
- J. Pediat.*
JORNAL DE PEDIATRIA, Rio de Janeiro, GB
- Matern. Inf.*
MATERNIDADE E INFANCIA, São Paulo, SP
- Med. Cir.*
MEDICINA E CIRURGIA, Porto Alegre, RS
- Med. Cult.*
MEDICINA E CULTURA, São Paulo, SP
- Mem. Inst. Oswaldo Cruz*
MEMÓRIAS DO INSTITUTO OSWALDO
CRUZ, Rio de Janeiro, GB
- Parasitology*
PARASITOLOGY, London, Inglaterra
- Pediat. Mod.*
PEDIATRIA MODERNA, São Paulo, SP
- Pediat. Prat.*
PEDIATRIA PRÁTICA, São Paulo, SP
- R. Assoc. Med. Bras.*
REVISTA DA ASSOCIAÇÃO MÉDICA BRA-
SILEIRA, São Paulo, SP
- R. Assoc. Med. M. Gerais*
REVISTA DA ASSOCIAÇÃO MÉDICA DE
MINAS GERAIS, Belo Horizonte, MG
- R. Bras. Biol.*
REVISTA BRASILEIRA DE BIOLOGIA, Rio
de Janeiro, GB
- R. Bras. Deficien. Mental*
REVISTA BRASILEIRA DE DEFICIÊNCIA
MENTAL, São Paulo, SP
- R. Bras. Malariol. Doenç. Trop.*
REVISTA BRASILEIRA DE MALARIOLOGIA
E DOENÇAS TROPICAIS, Rio de Janeiro, GB
- R. Bras. Med.*
REVISTA BRASILEIRA DE MEDICINA, Rio
de Janeiro, GB
- R. Bras. Oftalm.*
REVISTA BRASILEIRA DE OFTALMOLOGIA,
Rio de Janeiro, GB
- R. Bras. Patol. Clin.*
REVISTA BRASILEIRA DE PATOLOGIA
CLÍNICA, Rio de Janeiro, GB
- R. Bras. Pesq. Med. Biol.*
REVISTA BRASILEIRA DE PESQUISAS MÉ-
DICAS E BIOLÓGICAS, São Paulo, SP
- R. Dep. Nac. Prod. Anim.*
REVISTA DO DEPARTAMENTO NACIONAL
DA PRODUÇÃO ANIMAL, Rio de Janeiro, GB
- R. Fac. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo*
REVISTA DA FACULDADE DE FARMÁCIA E
BIOQUÍMICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO
PAULO, São Paulo, SP

- R. Fac. Farm. Odont. Araraquara*
REVISTA DA FACULDADE DE FARMÁCIA E ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA, Araraquara, SP
- R. Fac. Med. Univ. Fed. Ceará*
REVISTA DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ, Fortaleza, CE
- R. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*
REVISTA DA FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, São Paulo, SP
- R. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo*
REVISTA DE FARMÁCIA E BIOQUÍMICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, São Paulo, SP
- R. Farm. Odont.*
REVISTA DE FARMÁCIA E ODONTOLOGIA, Rio de Janeiro, GB
- R. Goiana Med.*
REVISTA GOIANA DE MEDICINA, Goiânia, GO
- R. Hosp. Clin.*
REVISTA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS, São Paulo, SP
- R. Inst. Adolfo Lutz*
REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ, São Paulo, SP
- R. Inst. Med. Trop. S. Paulo*
REVISTA DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO, São Paulo, SP
- R. Latinoamer. Microbiol. Parasitol.*
REVISTA LATINOAMERICANA DE MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA, México, DF
- R. Med.*
REVISTA DE MEDICINA, São Paulo, SP
- R. Med. Est. Guanabara*
REVISTA MÉDICA DO ESTADO DA GUANABARA, Rio de Janeiro, GB
- R. Med. IAMSPE*
REVISTA MÉDICA DO IAMSPE, São Paulo, SP
- R. Med. Inst. Prev. Serv. Est. M. Gerais*
REVISTA MÉDICA DO INSTITUTO DE PREVIDÊNCIA DOS SERVIDORES DO ESTADO DE MINAS GERAIS, Belo Horizonte, MG
- R. Med. Vet.*
REVISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA, São Paulo, SP
- R. Patol. Trop.*
REVISTA DE PATOLOGIA TROPICAL, Goiânia, GO
- R. Paul. Med.*
REVISTA PAULISTA DE MEDICINA, São Paulo, SP
- R. Saúde Públ.*
REVISTA DE SAÚDE PÚBLICA, São Paulo, SP
- R. Serv. Esp. Saúde Públ.*
REVISTA DO SERVIÇO ESPECIAL DE SAÚDE PÚBLICA, Rio de Janeiro, GB
- R. Soc. Bras. Med. Trop.*
REVISTA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, Rio de Janeiro, GB
- R. Soc. Scient. S. Paulo*
REVISTA DA SOCIEDADE CIENTÍFICA DE SÃO PAULO, São Paulo, SP
- R. UFERJ*
REVISTA UFERJ, Niterói, RJ
- R. Vet. Zootec.*
REVISTA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA, Rio de Janeiro, GB
- Res. Clin.-Cient.*
RESENHA CLÍNICO-CIENTÍFICA, São Paulo, SP
- Trib. Med.*
TRIBUNA MÉDICA, Rio de Janeiro, GB
- Veterinária*
VETERINÁRIA, Rio de Janeiro, GB
- Veterinário*
O VETERINÁRIO, São Paulo, SP

ÍNDICE DE AUTORES

— A —

ABUCHAM, R. — 209
AGOSTINI NETO, J. — 211
AISENGART, O. — 182
ALBANO, A. — 208
ALENCAR, A. — 210
ALENCAR, A. A. de — 69
ALENCAR, O. M. de — 270
ALMEIDA, C. — 310
ALMEIDA, C. de — 281
ALMEIDA, M. L. de — 139
ALVES, M. A. C. — 309
ALVES FILHO, N. — 211
AMARAL, L. B. S. — 87
AMARAL, V. do — 89, 146, 159
AMATO NETO, V. — 55, 79, 88, 101, 106, 107, 117, 128, 129, 130, 140, 149, 150, 160, 161, 162, 163, 175, 183, 184, 185, 186, 187, 191, 198, 199, 212, 213, 214, 235, 239, 240, 241, 242, 243, 261, 279, 280, 293, 294, 301, 311
ANDRADE, C. M. de — 143, 144, 167, 168, 196
ANDRADE, J. G. — 311
ARAGÃO, H. B. — 5, 24
ARANTES, J. B. — 13, 14, 15
ARAÚJO, F. G. de — 102, 115, 131, 188, 237, 238
AREAS, M. J. J. — 215
ASSIS, J. L. de — 164
ATANES NETO, S. — 199
AVILA, C. A. de — 280, 294

— B —

BACHESCHI, L. A. — 164
BARBOZA, H. S. — 216
BARBOZA, W. — 248, 249, 250, 251, 262, 272
BARCELLOS, J. M. — 232
BARROS, G. C. — 302, 303, 313
BARROS, R.C.G. — 302, 303, 313
BARROS, S. S. — 141
BARTKEVICH, S. — 227
BARUZZI, R. G. — 117, 142, 165, 189, 190
BERGAMIN, R. A. — 276, 306
BIANCHI, A. — 156
BIOCCA, E. — 27, 31, 32, 33, 35, 36, 37, 39, 40
BITTENCOURT, A. L. — 216
BITTENCOURT, J. P. M. — 217
BOARETTE, A. C. — 263
BORGES, M. A. G. — 137
BORTOLETTO, M. L. — 191
BRANDAO, L. L. — 238
BRETZ, G. — 26
BRIGAGAO, B. — 208
ERITO, F. S. de — 199
BROGLIATO, D. F. — 289, 290, 291
BUBMAN, I. — 156
BUSETTI, E. T. — 285
BUSSACA, A. — 45, 51

— C —

CALY, M. L. — 208, 277
CAMARGO, E. P. — 83, 85
CAMARGO, M. — 105
CAMARGO, M. E. — 95, 96, 108, 109, 110, 118, 127, 208, 241, 243, 244, 279, 292, 294, 301, 304
CAMPANA, C. L. — 156
CAMPEDELLI FILHO, O. — 146
CAMPOS, R. — 245, 283
CARDOSO, R. A. de A. — 66
CARINI, A. — 2, 6, 9, 10, 16, 17, 18
CARNEIRO, M. das N. R. — 83
CARVALHO, A. de A. — 58, 97
CARVALHO, J. A. — 268, 288
CARVALHO, O. A. de — 180
CARVALHO, R. P. de S. — 300
CASTELANI, B. R. — 300
CASTILHO, E. A. — 218
CASTRO, I. de O. — 281
CASTRO, M. P. de — 61, 89
CAT, I. — 263
CEVA, G. H. D. — 250, 251
CHAGAS, A. J. das — 246
CHAGAS, W. A. — 226
CHIARI, C. de A. — 246, 282
CHIARINI, C. — 143
CHRISTAN, A. de — 203
CIMERMAN, B. — 283
CONTI, O. C. — 131
CORREA, C. — 23
CORREA, M. O. A. — 149, 150, 228, 247, 270, 271, 273
CORREA, W. M. — 70
COSCINA, A. L. — 135, 136, 175, 176
COSTA, A. C. T. da — 279
COSTA, A. de L. — 119
COSTA, M. C. S. — 221
COSTA, M. L. — 285
COSTA, O. — 263
COSTA, S. C. G. da — 192, 193, 219, 220
COSTA SOBRINHO, V. M. da — 166, 194, 221
COTRIM, J. X. — 88, 254, 283
COUTINHO, J. de O. — 242
COUTINHO, M. — 73
COUTINHO, S. G. — 143, 144, 167, 168, 195, 196, 197, 284, 305
CUNHA, S. L. — 209
CURIAL, O. — 67

— D —

DANEMANN, R. — 181
DANTAS, A. — 132
DEANE, M. P. — 74, 75, 78, 90, 98, 174, 190, 222, 229, 257, 274
DELASCIO, D. — 46, 52, 68, 223

DE BELLIS, N. — 156
DEL NERO, G. — 110
DELLA NEGRA, M. — 306
DICKSTEIN, J. — 53
DOBEREINER, J. — 62

— E —

ELKIS, H. — 135, 136, 176
EVANGELISTA, S. — 251

— F —

FARHAT, C. K. — 208
FARIA, M. de A. S. — 307
FELDMAN, K. B. — 198, 199
FELIPPI, J. de — 208
FERNANDES, F. O. — 281
FERNANDES, W. J. — 179, 248, 249, 250, 251, 262
FERREIRA, C. A. — 224
FERREIRA, J. E. — 211
FERREIRA, J. M. — 136
FERREIRA, L. F. — 143, 144, 167, 168, 196, 197
FERREIRA FILHO, A. — 232
FERRI, A. G. — 60
FERRIOLI FILHO, F. — 308
FIALHO, S. A. — 59, 84, 111, 112, 120
FIGUEIREDO, J. A. — 99
FIORILLO, A. M. — 86, 99
FLORENCIO, M. — 288
FRANKEN, A. M. J. — 225, 226, 284
FREITAS, M. L. — 211

— G —

GALVAO, A.B. — 179
GARCIA, A. P. — 66, 145, 169
GAZAL, S. — 307
GIANINI, J. P. — 191
GIORGI, W. — 146
GIOVANNONI, M. — 51, 54, 56, 57, 64, 65, 121, 170, 285
GIRALDI, D. J. — 263
GOMES, F. J. R. — 123, 132, 133, 134, 151, 152, 153
GOMES, M. C. de O. — 88, 171, 172, 200, 201, 202, 286
GOMES, U. A. — 308
GONZAGA, M. — 103
GONZAGA, M. A. G. — 309
GRELE, F. C. — 53
GRYNBERG, N. — 147, 148, 173
GUARNIERI, D. E. — 292
GUEDES, J. da S. — 208
GUERRA, H. de A. — 251
GUIMARAES, E. C. — 174, 190, 222, 229, 257, 274
GUIMARAES, F. N. — 28, 34, 66, 147, 148, 173, 225, 226, 264, 265
GUIMARAES, J. X. — 266, 277
GUITTI, J. C. dos S. — 227

— H —

HALLAK, K. A. — 287
HECKLER, A. — 177
HENRIQUES, M. E. G. — 309
HIROBASSI, N. S. — 306
HUGGINS, D. — 252, 253, 267, 268, 288
HYAKUTAKE, S. — 149, 150, 205, 206, 228, 247, 269, 270, 271, 273, 275, 296, 312

— I —

IERVOLINO, A. C. L. — 281
ISHIZUKA, M. M. — 289, 290, 291

— J —

JAMRA, L. M. F. — 100, 174, 222, 229, 257, 274

— K —

KAMEYAMA, I. — 190
KAVINSKY, L. — 282
KIRCHNER, E. — 254
KONICHI, S. R. — 198, 199
KOPEL, L. — 227
KRINSKY, E. — 48
KUSCHNAROFF, T. M. — 266

— L —

LAGE, H. A. — 147, 148, 173, 264, 265
LAGO, E. P. — 246
LAISON, R. — 155
LAUS, W. C. — 88
LEITE, I. C. — 230
LERNER, H. — 182
LESER, P. G. — 244, 292
LEVI, G. C. — 149, 150, 175, 187, 235, 241, 243
LIMA, J. D. — 282
LION, M. F. — 227
LOMAR, A. V. — 310
LOPES, A. C. — 143, 144

— M —

MACHADO, A. de J. — 251
MACHADO, E. M. — 93
MACHADO, J. O. L. — 113, 122, 123, 132, 133, 134, 151, 152, 153, 154
MACHADO, M. E. L. — 151
MACHADO, O. — 232
MACIEL, J. — 9, 10, 16, 17, 77
MACIEL, M.F. — 268
MACRUZ, R. — 159
MAFFEI, W. E. — 48
MAGALDI, C. — 101, 135, 136, 176
MAGALHAES, S. M. T. — 281

- MALHEIROS JR., O. — 130
MALOGOLOVKIN, I. — 124
MALVAR, G. S. — 196
MANISSADJIAN, A. — 93, 137
MARINONI, L. P. — 263
MARQUES, A. M. — 309
MARTINEZ BERNAOLA, N. — 192, 193, 220
MARTINS, L. D. — 177
MASSOLA, V. C. — 114
MATTAR, G. — 227
MATTOS, A. F. de — 208
MATTOS, C. A. — 293
MATTOS, E. A. — 303
MATTOS, R. B. — 231
MAYRINK, W. — 102, 115
MEIRA, J. A. — 55, 79
MELO, E. V. de — 211
MELLO, M. J. de — 54
MENDEZ, A. J. — 156
MENDONÇA, I. de A. — 63, 71
MENDONÇA, J. S. de — 198, 199, 241, 280, 294, 311
MENDONÇA, L. R. M. — 305
MENDONÇA, L. S. P. de — 211
MEYER, H. — 28, 38, 63, 71, 255, 256, 295
MIGLIANO, L. — 8, 11, 18
MIGUEL, O. — 289, 290, 291
MILSTEIN, T. F. — 306
MINGOIA, Q. — 125
MION, D. — 229
MIZIARA, A. M. — 310
MOLFI, A. — 67
MONICI, N. — 41, 81
MONTEIRO, D. C. M. — 101
MORETTO, R. — 232
MOURA, A. — 203
MUSACCHIO, M. de O. — 255, 295
- N —
- NASCIMENTO FILHO, O. B. — 93
NEGHME, A. R. — 204, 233, 234
NERY, O. — 178
NEVES, J. G. — 60
NICOLINI, J. — 177
NÓBREGA, P. — 29, 37, 39, 40, 45, 47, 49, 51, 54,
55, 56, 57, 64, 65, 79
NOGUEIRA, J. L. — 308
NOHMI, N. — 205, 206, 270, 271, 273
NOURA, F. — 155
NUSSENWEIG, R. S. — 72, 75, 78
- O —
- OLESKO, T. — 203
OLIVEIRA, F. A. — 277
OLIVEIRA, G. de — 197
OLIVEIRA, G. S. C. de — 262, 272
OLIVEIRA, M. X. — 38
OLIVEIRA, R. L. de — 179, 250, 251
OREFICE, F. — 237, 238
OSELKA, G. W. — 241, 243
- P —
- PAIM, G. V. — 91
PARAENSE, W. L. — 42
PARAGUASSU, L. C. — 111
PARANHOS, U. — 7
PARISI, E. — 156
PASQUALIN, R. — 27
PASTERNAK, J. — 235, 242, 280
PATTOLI, D. — 135, 136, 176
PAULA, A. B. de — 310
PEDRO, R. de J. — 198, 199
PENNA, H. A. de O. — 93, 137
PENTEADO JR., H. — 190
PEREIRA, C. de B. — 199
PEREIRA, G. J. M. — 288
PEREIRA, J. M. — 103
PEREIRA, L. H. — 102, 115
PEREIRA, M. G. L. — 299
PEREIRA, N. da M. — 192, 193, 219, 220
PEREIRA, V. G. — 208
PEREZ, M. D. — 269, 275
PESSOA, M. C. — 266
PESSOA, S. B. — 23
PIMENTA, A. M. — 43
FINHEIRO, Z. B. — 262
PINHO, A. L. de — 134, 151, 152, 153, 154
PINTO, C. — 76, 77
PIRES, W. — 25
PORTO, G. — 223
PRIMO, J. C. N. — 286
- Q —
- QUEIROZ, J. C. de — 91, 136
QUINTÃO, E. C. da R. — 92
- R —
- RACHID, A. — 263
RAMOS, J. L. A. — 137
RAMOS FILHO, C. — 284, 305
RAMOS JUNIOR, J. — 156
RAPOSO, G. M. — 309
RASKIN, M. — 181
REDNER, P. — 157, 236
REFINETTI, P. — 46
REIS, J. — 29
REZENDE, J. de — 50, 232
RIBEIRO, L. O. C. — 31
RIBEIRO, R. M. — 99, 104
RIBEIRO, T. A. — 221
RICCI, I. — 53
RIOS, M. — 271
RISKALA, R. — 203
RIVETTI, F. S. — 130
ROCCA, A. — 244, 301
ROCHA, H. S. — 53
RODRIGUES, E. A. C. — 311

— S —

SÁ, B. — 288
SADATSUNE, T. — 205
SADO, K. — 311
SALIBA, A. M. — 60
SAMPAIO, C. E. — 273
SANGIORGI, G. — 43
SANT'ANA, I. B. de A. B. — 296, 312
SANTOS, M. N. — 141
SANTOS, N. R. dos — 126
SANTOS, V. — 25
SCAFF, M. — 164
SCALABRINI, L. G. P. — 276
SCHAFFER, G. — 210
SCHLOGEL, F. — 138
SCHMAL, M. R. — 281
SCHMIDT, S. — 179
SCHVARTSMAN, S. — 93, 137
SESSA, P. A. — 302, 303, 313
SHAW, J. J. — 155
SILVA, A. L. da — 272
SILVA, A. M. — 192, 193
SILVA, C. P. da — 48
SILVA, C. T. F. — 206
SILVA, D. A. da — 87
SILVA, E. L. da — 270
SILVA, J. M. L. da — 80
SILVA, L. A. — 180
SILVA, L. G. A. da — 266
SILVA, L. H. P. — 82, 83, 85
SILVA, L. J. — 301
SILVA, S. — 123, 132, 133, 134, 151, 152, 153, 154
SILVA, Y. K. de O. — 162, 163, 242
SILVEIRA, L. — 306
SINTOMATOLOGIA atípica na toxoplasmose adquirida — 116
SOGORB, S. F. — 222, 257, 274
SOUZA, W. de — 256, 258, 259, 297, 298
SPLENDORE, A. — 1, 3, 4
SPRINGER, L. — 30
STARLING, C. B. — 269, 275
STUMM, E. V. — 87
STURM, J. A. — 299

— T —

TAKEDA, A. K. — 181, 260, 276, 306, 310
TARTAGLIA, D. — 271
TEIXEIRA, A. A. — 262
TEIXEIRA, H. — 207
TEIXEIRA, I. — 84, 112
TEIXEIRA, M. I. S. — 94
TEIXEIRA, P. — 207
TELLES, C. E. V. — 293
TERUEL, J. R. — 308
TIRIBA, A. da C. — 208, 277, 310
TOGNOLI, J. F. — 247
TONELLI, E. — 237, 238, 246
TORRES, C. M. — 19, 20, 21, 22
TOSTES, J. — 26
TOXOPLASMOSE — 44
TRAPP, E. — 45, 57, 64, 65, 79

— U —

UCHOA, P. — 86
UEDA, M. — 276
UNES, S. — 273

— V —

VALENTE, F. A. T. — 87
VALENTE, M. C. — 286
VAZ, F. A. C. — 137
VENANCIO, I. A. — 147, 148, 173
VERONESI, R. — 105, 127, 158
VIEIRA, A. A. — 203
VIEIRA, P. B. — 58

— Y —

YONEDA, S. — 300

— Z —

ZANINI, L. A. — 311

RIAL-A/424

HYAKUTAKE, S. & MEARIM, A.B. — Toxoplasmosis in Brazil. Bibliographic survey from 1908 to 1975. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 103-125, 1975/76.

SUMMARY: A bibliographic survey on toxoplasmosis in Brazil covering the period from 1908 to 1975 is presented.

DESCRIPTORS: toxoplasmosis (Brazil); toxoplasmosis, Brazilian bibliography.

UTILIZAÇÃO DE VÁRIOS TIPOS DE FUCSINA BÁSICA NO PREPARO DO REATIVO DE SCHIFF PARA COLORAÇÃO DOS ALDEÍDOS EM CORTES DE TECIDOS *

Evandro Pimenta de CAMPOS **
Antonio James BRANDI **
Adriana Manginelli MASSIGNANI **
Nilza BAPTISTA **

RIAL-A/425

CAMPOS, E. P.; BRANDI, A. J.; MASSIGNANI, A. M. & BAPTISTA, N. —
Utilização de vários tipos de fucsina básica no preparo do reativo de Schiff para coloração dos aldeídos em cortes de tecidos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 127-130, 1975/76.

RESUMO: Qualquer tipo de fucsina básica poderá ser empregado com sucesso no preparo do reativo de Schiff, para a coloração dos aldeídos, e não somente as fucsinas básicas indicadas pelos livros de técnicas histológicas, usando-se as seguintes normas: a) eliminar o máximo de oxigênio da água, fervendo durante uns 15 minutos; b) cessar a ebulição afastando-a da chama e só então juntar a fucsina; c) colocar o metabissulfito no fundo do reativo bem acidificado; d) não deixar nenhum traço de carvão na solução; e) evitar contacto de ar com o reativo, durante sua estocagem.

DESCRITORES: leucofucsina, preparo; coloração de aldeído em tecido; aldeído em tecido, coloração.

I N T R O D U Ç Ã O

Os tratados de técnicas histológicas indicam que somente determinados tipos de fucsina básica podem produzir uma leucofucsina que serve para a coloração de glicogênio com o reativo de Schiff. Este fato vinha há tempos chamando nossa atenção, parecendo-nos que poderíamos utilizar outras fucsinas para obter uma leucofucsina, usando a fórmula de Tomasi, citada por PEARSE † (1960), para preparação do reativo de Schiff.

Com alguns cuidados e fazendo algumas modificações, chegamos à conclusão de que qualquer tipo de fucsina básica dará uma leucofucsina em perfeitas condições de uso para utilização nessa técnica.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram usados cortes de fígado, rim, baço, pulmão e de outros órgãos de camun-

* Realizado na Seção de Anatomia Patológica do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

dongos nos quais foram injetados, por via intramuscular, 2 ml de solução de sucrose a 3,5%; estes animais, sacrificados 3 horas após a injeção, mostraram nos órgãos grandes quantidades de glicogênio. Foram utilizadas lâminas negativas para glicogênio, empregando-se o teste da saliva, para controle.

As peças foram fixadas em formol alcoólico gelado, assim preparado: 20 ml de formol puro, 40 vol., 50 ml de água destilada e o volume completado até 230 ml com álcool absoluto. Estas peças, colocadas no fixador formol alcoólico, foram conservadas em geladeira durante 24 horas e, depois de fixadas, foram colocadas em álcool absoluto, 3 mudanças de 1 hora cada; em clorofórmio, 2 mudanças de 1 hora cada; em parafina, 3 mudanças de 1 hora cada. Foram feitos cortes de 6 microns de espessura.

Também foram coradas lâminas de fungos pelo método de Gridley, sabendo-se que nesta coloração usa-se uma leucofucsina.

1. Reativo de Schiff (segundo Tomasi apud PEARSE⁴), conforme nossa técnica:

Ferva 400 ml de água destilada, durante 15 minutos até que o volume seja reduzido a 200 ml, afaste a chama e espere até que cesse a ebulição. Junte, sem triturar, 1 g de fucsina básica. Agite vagarosamente durante 5 minutos. Deixe a solução esfriar até 50°C. Filtre diretamente para um balão volumétrico de 250 ml de cor âmbar e adicione à solução 20 ml de ácido clorídrico normal. Deixe que a solução esfrie até 25°C e adicione, através de um funil de tubo longo (fig. 1), 1 g de metabissulfito de sódio, fazendo com que este caia no fundo da solução. Tampe imediatamente o balão. Agite suavemente durante um minuto e deixe o reativo em repouso no escuro, em temperatura ambiente, por 24-48 horas. Junte unicamente 2 g de carvão ativo (Norit). Agite a solução durante 1 minuto e filtre, várias vezes, em papel de filtro Whatman n.º 1, para eliminar qualquer traço de carvão que seria prejudicial ao reativo. Trans-

fira a solução para um frasco escuro apropriado e tampe. O frasco deverá conter um máximo de solução, para que a camada de ar entre a tampa e o reativo seja a menor possível. O contacto da solução com o oxigênio do ar oxida a leucofucsina¹. Conserve a solução assim obtida em geladeira a 0,5°C; porém, antes de seu uso, ela deve adquirir a temperatura do ambiente, para o que basta deixá-la em repouso sobre uma mesa durante 1 hora.

2. Coloração pelo método de Schiff (PAS)

A coloração para evidenciar o glicogênio deve ser sempre feita sob uma película protetora de celoidina, como foi sugerido por LISON³ (1960), LILLIE² (1954) e PEARSE^{5,6}, 1960.

Soluções

- a) Celoidina a 1% (álcool a 95% e éter em partes iguais);
- b) Ácido periódico diluído ($\text{HIO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, conc. 0,5 g; água destilada, 100 ml);
- c) Reativo de Schiff, preparado conforme foi descrito anteriormente, partindo de qualquer fucsina básica ou New Fuchsin;
- d) Hematoxilina de Harris sem ácido acético, de fórmula conhecida.

Coloração

1. Xilol 1 (p. desparafinar) 5 min
2. Xilol 2 (p. desparafinar) 5 min
3. Álcool absoluto 3 min
4. Álcool a 95% 3 min
5. Solução A (para proteger) 10 min
6. Deixar secar perfeitamente as lâminas em pé.
7. Álcool a 80% (para endurecer a celoidina) 5 min
8. Lavar em água de torneira 5 min
9. Lavar em água destilada 5 min
10. Colocar na solução B (para oxidar) 5 min
11. Lavar somente em água destilada.

12. Corar na solução C (o frasco de Borel deverá estar fechado e protegido da luz) 15 min
13. Lavar em água de torneira para desenvolver a cor rosa 10 min
14. Corar na solução D 2 min
15. Lavar em água corrente, diferenciar rapidamente em álcool ácido (HCl 0,5 ml e álcool a 70%, 95 ml), 2 mergulhos.
16. Lavar em água corrente 10 min
17. Colocar em álcool a 95% e em álcool absoluto e enxugar as lâminas em papel de filtro, com o corte voltado para baixo.
18. Xilol (2 mudas) 5 min
19. Montar em bálsamo sintético do Canadá diluído em toluol.

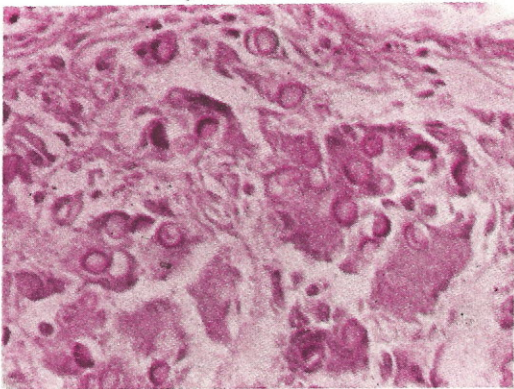


Fig. 1 — Corte de gânglio linfático com blastomicose sul-americana, com fungos corados pelo Método de Gridley (PAS): membrana (PAS positivo), corada de vermelho forte; núcleo (corado pela fucsina alceídica), arroxeadado; citoplasma das células fagocitárias corado pela hematoxilina de Harris em azul. 400 x.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

PEARSE⁶ (1960) acha que nem todos os lotes de fucsina básica produzem uma reação satisfatória. Todavia, quando o reativo não funciona, nem sempre depende da mar-

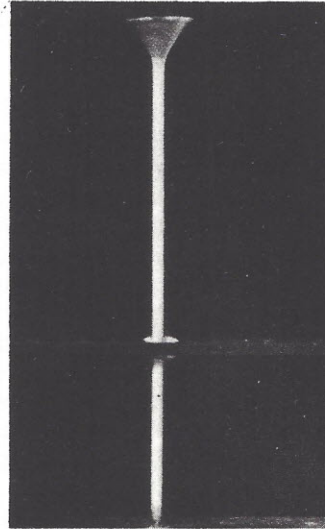


Fig. 2 — Funil de vidro com haste bastante longa utilizado na técnica.

ca do corante nem da partida, mas sim da maneira como o reativo foi preparado. Experimentamos vários tipos de fucsina básica, a saber: Fucsina Merck em pó e Merck-Diamant; fucsina B.D.H. (British Drug House); fucsina Grüber; New Fuchsin Harleco; fucsina básica Harleco; fucsina básica Carlo Erba; fucsina básica Schiaparelli; fucsina básica Gurr; fucsina básica Difco; fucsina básica Biochemical Research, e com todos eles obtivemos leucofucsinas, que deram ótimos resultados na coloração pelo PAS.

Recomendamos, portanto, que, para se obterem resultados satisfatórios no preparo das leucofucsinas, é necessário eliminar todo o oxigênio da água destilada empregada e evitar a oxidação da fucsina básica, ao colocá-la em ebulição, bastando para isso afastar a chama; colocar o metabissulfito na solução resfriada, a 25°C, através de um funil de tubo bem longo, que atinja quase o fundo do balão volumétrico, para que a redução não se dê fora da solução, mas que a perda de oxigênio se dê dentro da solução com desprendimento de SO₂; evitar ao máximo o contacto da solução com o oxigênio do ar, para o que se deve filtrá-la rapidamente, tampar logo o frasco e re-

tirar todo o carvão da solução com papel de filtro apropriado, fazendo várias filtrações com o mesmo papel.

Aconselhamos sempre, antes de se desprezar o reativo de Schiff, experimentá-lo em lâminas positivas pois, às vezes, podemos ter reativos de Schiff que, apesar de se apresentarem corados, dão ótimas colorações para o glicogênio e, outras vezes, podemos ter leucofucsinas perfeitamente cristalinas que não funcionam; este último fato se deve ao excesso na quantidade de carvão utilizado para descolorar o reativo, considerando que o carvão, possuindo propriedades físicas de adsorção, vai descolorar totalmente o corante, não permitindo mais

que, nos cortes, a fucsina reaja com o aldeído, dando a cor vermelha. A coloração de glicogênio deve ser feita sempre sob uma camada protetora de colóidio, conforme sugestão de LISON³, LILLIE² e PEARSE⁶, já citados.

Agradecimentos

Agradecemos a Difco Laboratories, Michigan, U.S.A.; Edward Gurr, Ltd., London, England; Carlo Erba, Milano, Itália; British Drug House, London, England; Schiaparelli, Milano, Itália e California Corporation for Biochemical Research, Cal., E.U.A., por nos terem enviado graciosamente amostras de fucsinas básicas.

RIAL-A/425

CAMPOS, E.P.; BRANDI A.J.; MASSIGNANI, A.M. & BAPTISTA, N. — Use of various brands of basic fuchsin in the preparation of the Schiff's reagent for staining of aldehydes in tissue sections. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 127-130, 1975/76.

SUMMARY: Any brand of basic fuchsin can be used in the preparation of Schiff's reagent for staining of aldehydes rather than only those indicated in the histologic techniques literature, provided the following guidelines are observed: a) oxygen in the water is to be eliminated to the maximum extent possible by boiling the water for 15 minutes; b) addition of fuchsin to the water is to be made only after heating is discontinued; c) metabissulfite must be added at the bottom of the acidified reagent; d) no trace of coal is to be left in the solution; e) reagent is not to have contact with air during storage.

DESCRIPTORS: leucofuchsin, preparation; staining, aldehyde in tissue; aldehyde, staining in tissue.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DAVENPORT, A.H. — *Histological and histochemical techniques*. Philadelphia, Saunders [c1960]. p. 187.
2. LILLIE, R.D. — *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3th ed. New York, McGraw-Hill [c1965]. p. 496.
3. LISON, L. — *Histochimie et cytochimie animales. Principes et méthodes*. 3ème ed. Paris, Gauthier-Villars, 1960. v.2, p. 433.
4. PEARSE, A.G.E. — *Histoquímica teorica y aplicada*. Versión española de Tomas Palomo Salas. Madrid, Aguilar, 1960. p. 473.
5. Ibid p. 175.
6. Ibid p. 472.

Recebido para publicação em 25 de setembro de 1975.

CLOSTRIDIUM BOTULINUM EN SUELOS DEL ESTADO MÉRIDA, VENEZUELA

Beatriz NIEVES *
Roberto GABALDÓN P. **

RIAL-A/426

NIEVES, B. & GABALDÓN P., R. — *Clostridium botulinum* en suelos del Estado Mérida, Venezuela, *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 131-137, 1975/76.

RESÚMEN: Se estudiaron 100 especímenes de suelo, preferentemente de zonas próximas a las márgenes del Río Chama, incluyendo regiones de diversas características climáticas y suelos de diferente naturaleza.

Clostridium botulinum tipo A fué demostrado en tres especímenes de El Vigía y tipo D en dos especímenes de las zonas vecinas a Ejido y Estánquez respectivamente.

El hecho de que el botulismo humano ó animal no ha sido descrito en el país puede atribuirse a fallas de diagnóstico y se sugiere su investigación en enfermedades con síntomas compatibles con él.

DESCRIPTORES: *Clostridium botulinum* (Mérida, Venezuela).

INTRODUCCION

El botulismo puede definirse como "enfermedad neuro-paralítica, siempre grave, que afecta al hombre y animales en varias regiones del mundo y generalmente resultante de la ingestión de alimentos que contienen metabolitos tóxicos de uno o varios tipos conocidos de *Clostridium botulinum*, cuyo habitat natural es el suelo de ciertas regiones geográficas"².

A esta definición, consignada por Dolman

en 1964, deben agregarse los conceptos más recientes acerca de la posibilidad de contraer la enfermedad, por contaminación de heridas con esta especie bacteriana. Se han descrito diez casos de este tipo en la literatura mundial hasta 1973 y cinco casos adicionales entre marzo y septiembre de 1974, todos ellos ocurridos en EE.UU. por heridas traumáticas¹⁰.

La revisión bibliográfica nacional no revela ningún informe sobre casos de botulismo ocurridos en el país, ni sobre inves-

* Del Departamento de Microbiología de la Facultad de Farmacia de l'Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

** Del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina de l'Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

tigación de esporas de *Clostridium botulinum* en sus suelos. La única referencia encontrada sobre presencia de esporas de esta especie, en zonas vecinas a nuestro país, se relaciona con la demostración de *C. botulinum* en sedimentos marinos y animales acuáticos en el Golfo de Venezuela y en el Golfo de Darién, investigada por Carrol y col.¹, posiblemente con la finalidad de determinar la calidad sanitaria de productos derivados de la pesca en sus aguas, ya que la investigación fué auspiciada por el Bureau of Commercial Fisheries (Pascagoula, Miss.)

MATERIAL Y MÉTODOS

Cien especímenes de suelos fueron coleccionados entre Octubre de 1.973 y Mayo de 1.975, tomadas en distintas zonas del Estado Mérida, en regiones áridas, fértiles, arenosas, boscosas y pastizales, preferentemente en las márgenes del Río Chama y a diferentes altitudes de su curso.

Aproximadamente 10 g de espécimen de suelo, fueron suspendidos en 25 ml de gelatina-fosfato. 1 ml de esta suspensión fué inoculado en cada uno de tres tubos conteniendo caldo-carne picada adicionado de 0,3% de dextrosa y 0,2% de almidón, previamente reducido y enfriado. Un tubo fué calentado a 75°C, por 15 minutos, un segundo tubo a 80°C, por 10 minutos y el tercer tubo no recibió tratamiento alguno. Los tubos de caldo-carne-dextrosa-almidón, así inoculados y tratados, fueron incubados en anaerobiosis por cinco días a 30°C.

1. Clarificación

a) La porción líquida de los cultivos, así obtenidos, fué transferida a tubos plásticos de centrifuga.

b) Se centrifugó a 12.350 x g durante 10 minutos a 4°C.

c) El sobrenadante fue vertido en tubos de 15 x 125 mm.

2. Tripsinización

Se mezclaron 4,5 ml del sobrenadante con 0,5 ml de una solución de tripsina al 1%, se incubó a 37°C, por 45 minutos.

3. Inoculación al ratón

a) Se prepararon las distintas mezclas de sobrenadante-antitoxina como se muestra en la tabla 1, incubando a temperatura ambiente por 30 minutos.

b) Se inyectaron dos ratones de 15 a 20 g de peso, por vía intraperitoneal, con cada mezcla (0,5 ml por ratón). Se observaron los ratones por un período de cuatro días. La muerte de los ratones por botulismo ocurre generalmente entre 6-24 horas, ocasionalmente puede ser tardía. Los síntomas de botulismo en los ratones a menudo aparecen cuatro horas después de la inoculación e incluye erizamiento de la piel, respiración abdominal laboriosa y parálisis de los miembros.

c) Si la toxina botulínica está presente en los cultivos en suficiente cantidad para ser detectada en estas condiciones, las mezclas no calentadas matarán a los ratones, excepto aquellos que reciben la antitoxina específica. Los ratones inoculados con el sobrenadante calentado a 100°C, sobrevivirán.

Aislamiento

Para obtener cultivos puros de *C. botulinum*, se sub-cultivó de caldo-carne-dextrosa-almidón, en placas de agar yema de huevo modificado por McClung-Toabe⁶, incubando anaeróticamente a 37°C, por 48 horas.

La incubación en anaerobiosis se realizó en jarras de Brewer, con catalizador en caliente y reemplazo del aire por una mezcla de 10% de H₂, 80% de N₂ y 10% de CO₂, utilizando un indicador de anaerobiosis constituido por trazas de azul de metileno en solución de glucosa.

Se seleccionaron las colonias sospechosas, lipasa positiva, cultivando cinco de ellas en caldo-carne-dextrosa-almidón e in-

cupando a 30°C, para máxima producción de toxina. La identificación de los cultivos puros fué establecida por pruebas bioquímicas³, y el tipo de toxina botulínica fué determinado por neutralización de la toxina descrita anteriormente*.

TABLA 1

Neutralización de las toxinas de C. Botulinum

Tubo N.º	Sobrenadante	Antitoxina	Tratamiento
1	1 ml	—	100°C, 10 min.
2	1 ml	—	Temp. amb. 30 min.
3	0,8 ml	0,2 ml anti A	Temp. amb. 30 min.
4	0,8 ml	0,2 ml anti B	Temp. amb. 30 min.
5	0,8 ml	0,2 ml anti C	Temp. amb. 30 min.
6	0,8 ml	0,2 ml anti D	Temp. amb. 30 min.
7	0,8 ml	0,2 ml anti E	Temp. amb. 30 min.

RESULTADOS

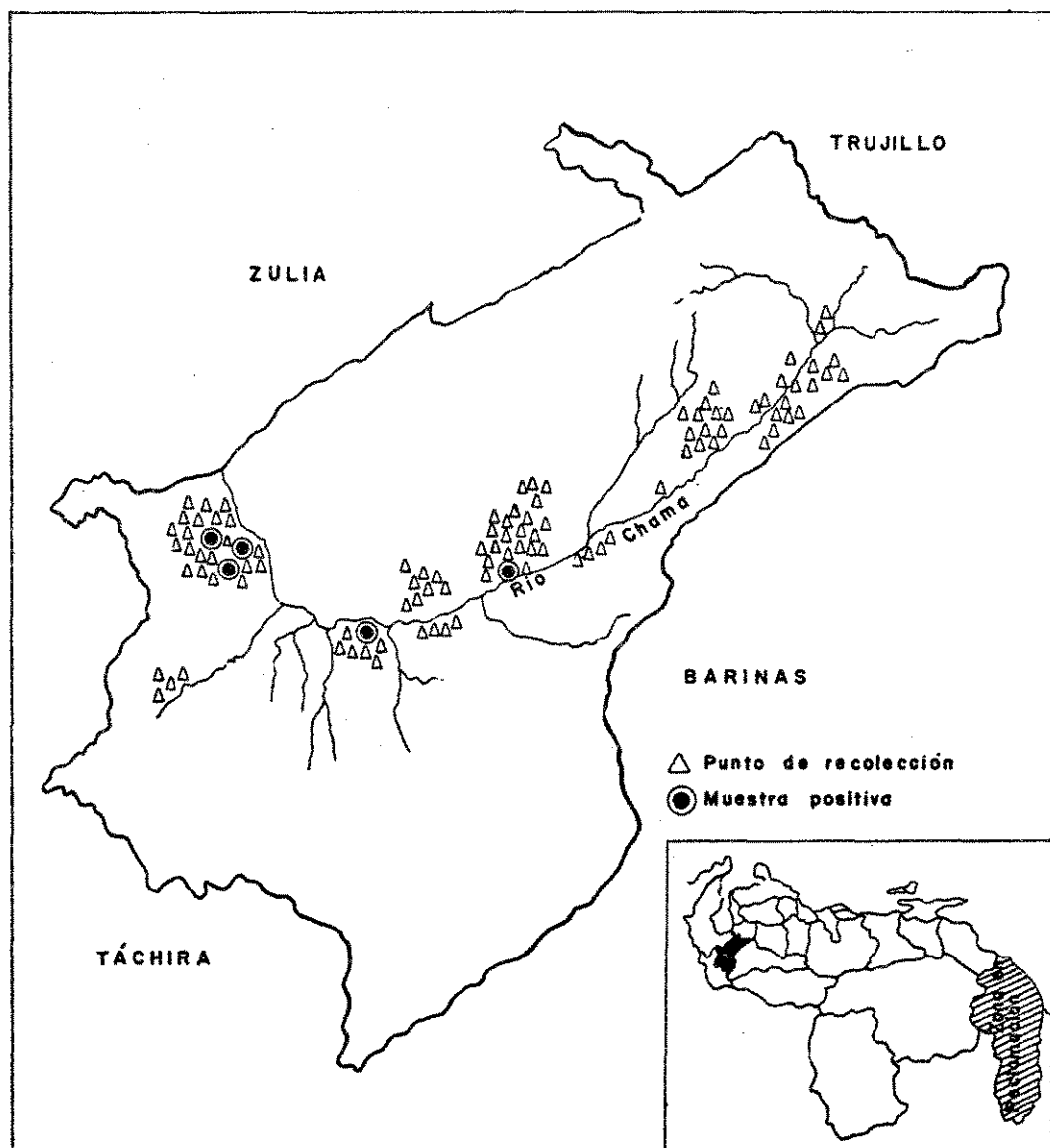
Con el propósito de determinar la distribución de *C. botulinum* en suelos del Estado Mérida, se investigó un total de cien especímenes de tierra, coleccionados en diversos puntos del Estado, principalmente en la cuenca del Río Chama que atraviesa el Estado Mérida de Norte a Sur, por los Distritos Rangel, Libertador, Campo Elías, Sucre, Tovar y Rivas Dávila.

La presencia de *C. botulinum* en los 100 especímenes de diferentes tipos, de suelos del Estado Mérida, se resumen en la tabla 2 y la ubicación de los sitios de colección, en la figura (pág. 127).

En la muestra estudiada, el 5% de los especímenes fueron tóxicos en los cultivos iniciales en caldo-carne-dextrosa-almidón. La prueba de neutralización de la toxina con antisueros monovalentes tipo A, B, C, D y E, reveló *C. botulinum* tipo D en dos casos y *C. botulinum* tipo A en tres casos (tabla 3).

Sin tomar en cuenta la toxicidad de los cultivos iniciales, se intentó el aislamiento de *C. botulinum* a partir de los mismos, en medio de agar yema de huevo modificado por Mc Clung y Toabe⁶, obteniéndose colonias lipasa positiva y lecitinasas negativa, pero sin clara evidencia de toxicidad.

* Las antitoxinas tipo específicas A y B utilizadas fueron obtenidas de Wellcome Burroughs (Londres) y los tipos C, D, y E, gentilmente cedidas por el Anaerobic Laboratory, C.D.C., Atlanta, U.S.A.



DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE LA MUESTRA DE SUELO

TABLA 2

Ocurrencia de *C. botulinum* en suelos del Estado Mérida
(Octubre de 1973 - Mayo de 1975)

Zona Alturas (Mt. S. N. M.)	N.º de Especímenes	N.º de Especímenes conteniendo <i>C. botulinum</i>	Tipo de <i>C. botulinum</i>
Alto Chama (1.800-4.000)	31	0	—
Chama Medio (1.800-800)	24	1	A
Bajo Chama (800-0)	45	4	A y D
Totales	100	5	

TABLA 3

Letalidad de los neutralizados de toxinas botulínicas

Muestra N.º	Ratón N.º	Efecto en el ratón recibiendo 0,4 ml del centrifugado más 0,1 ml de antisuero tipo:					Control	N.º Protegidos
		A	B	C	D	E		
67	1	M	M	M	S	M	S	M
	2	M	M	M	S	M	S	M
78	1	M	M	M	S	M	S	M
	2	M	M	M	S	M	S	M
87	1	S	M	M	M	M	S	M
	2	S	M	M	M	M	S	M
89	1	S	M	M	M	M	S	M
	2	S	M	M	M	M	S	M
96	1	S	M	M	M	M	S	M
	2	S	M	M	M	M	S	M

M = Muertes
S = Sobrevivientes

D I S C U S I Ó N

La ocurrencia de *C. botulinum* en la muestra estudiada, en un 5%, nos revela la relativa poca frecuencia de este germen en los suelos investigados. Los cinco especímenes positivos para *C. botulinum* fueron coleccionados en la zona sur del Estado: Ejido, Estánquez y el Vigía. *C. botulinum* tipo A fué detectado en tres muestras y *C. botulinum* tipo D en dos muestras.

En los países donde se ha observado, el botulismo se presenta en brotes de pequeña escala y muy raramente en la población humana, a diferencia de los animales en los que produce brotes en gran escala por la ingestión de alimentos contaminados, por animals particularmente susceptibles a ciertos tipos antigénicos de la toxina (tipos C y D en aves y bovinos respectivamente). Tal situación es explicable por los procedimientos utilizados en la alimentación regulada del ganado y por las costumbres migratorias de aves salvajes, que los llevan a consumir masivamente un tipo de alimento que puede estar contaminado.

Globalmente se ha establecido que entre el 1% y el 25% de los suelos contienen esporas de *C. botulinum* (EE.UU., Australia, Hawai, China, Suecia, Inglaterra, Alemania)¹⁰. En Norte América el tipo A predomina al oeste de las Montañas Rocosas y el tipo B en el valle del Rio Mississippi y región de los grandes Lagos⁹. En 1967, Kravchenko encontró *C. botulinum*⁵, en el 10,5% de los suelos de la Unión Soviética, con predominio del tipo E en el 62% de las muestras positivas, observando a la vez mayor porcentaje de muestras positivas en el sur del país. El mismo autor afirma que no halló relación entre la positividad de los suelos y la mayor densidad de población, de suelos cultivados o dedicados al pastoreo, en cambio, se observó alguna influencia por parte de la presencia de aluvión o arena. El predominio del tipo E en ambientes acuáticos parece circunscribirse a latitudes septentrionales, ya que según

los trabajos de Carroll y Ward en el Golfo de Méjico¹², Golfo de Darién y Golfo de Venezuela¹, aunque revelan la presencia de los tipos A, C y E, observan predominio de los dos primeros.

En Europa, por muchos años, ha aparecido el tipo B como predominante⁹, pero recientes investigaciones indican que el tipo E es más común en el norte del continente, particularmente Suecia y Dinamarca⁹; los tipos C y D, aunque están presentes, son relativamente raros. El tipo B ha sido aislado en suelos de Hawai, China y Japón, siendo el tipo E el más común en este último país⁴.

Muestras de sedimentos del Estado de Ceará, Brasil, y muestras de peces capturados en las costas de Nicaragua y Honduras, revelaron resultados similares a los de los Golfos de Venezuela y Darién¹¹.

De la muestra de suelo investigada en el presente trabajo se logró aislar colonias lipasa positiva en un 55%, de los especímenes que aparentemente corresponden, por las pruebas bioquímicas, a *C. sporogenes*, microorganismo estrechamente relacionado con *C. botulinum* y del cual solo se diferencia por su falta de toxicidad. En este aspecto, nos enfrentamos al problema ya planteado por otros autores^{6,7} en cuanto a la dificultad de aislar *C. botulinum* en cultivo puro, de materiales altamente contaminados. En este sentido debe advertirse también la posibilidad de interferencia que sobre la producción de toxina botulínica y sobre el crecimiento de *C. botulinum* pudiera ejercer la presencia de otra flora asociada (*C. perfringens*, *C. sporogenes* y *B. cereus*), como lo ha demostrado recientemente Smith⁸.

La ausencia de informes sobre casos de botulismo en el país es atribuida a carencia de su investigación sistemática como procedimiento de diagnóstico en cuadros con síntomas y signos compatibles, por lo que se sugiere su investigación en casos que lo ameriten.

RIAL-A/426

NIEVES, B. GABALDÓN P., R. — *Clostridium botulinum* in soils of Mérida state, Venezuela. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 131-137, 1975/76.

SUMMARY: One hundred soil samples from regions along Chama River were studied. The samples were taken from places presenting different weather conditions and several types of soil.

Type A *Clostridium botulinum* was found in three samples from El Vigía and type B was found in two samples from the neighborhood of Ejido and Estánquez.

The fact that both human and animal botulism were never reported in the country can be laid to diagnostic failures and its investigation in diseases with compatible symptomatology is suggested.

DESCRIPTORS: *Clostridium botulinum* (Mérida, Venezuela).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CARROL, B.J.; GARRET, E.S.; REESE, G.B. & WARD, B.Q. — Presence of *Clostridium botulinum* in the Gulf of Venezuela and the Gulf of Darién. *Appl. Microbiol.*, 14: 837-8, 1966.
2. DOLMAN, C.E. — Botulism as a world problem. Botulism 1964 Proceedings of a Symposium. ed Lewis & Cassel. Cincinnati. Public Health Service n.º 999-FP, 1964.
3. DOWELL, V.R. & HAWKINS, T.M. — Laboratory methods in anaerobic-bacteriology. Atlanta, C.D.C., 1974. DHEW Publication n.º 74-8272.
4. KANZAWA, K.O.; TELJI, O.; KARASHIMADA, T. & IIDA, H. — Distribution of *Clostridium botulinum* type E in Hokkaido, Japan. Proceedings of the First U.S. Japan Conference on Toxic Microorganisms. p. 299-308, 1970.
5. KRAVCHENKO, A.T. & SHUSLINA, L.M. — Distribution of *Clostridium botulinum* in the soil and water of U.R.R.S. Botulism 1966. Proceedings of the Fifth International Symposium of Food Microbiology. Ed. Ingram & Roberts. London. 1967.
6. McCLUNG, L.S. — A review of enrichment and isolation methods of *Clostridium botulinum*. Botulism 1966. Proceedings of the Fifth International Symposium of Food Microbiology. Ed. Ingram & Roberts. London, 1967.
7. SLOCUM, G.C. — Problems of isolation and identification of *Clostridium botulinum*. Botulism 1964. Proceedings of a Symposium. Ed. Lewis & Cassel. Cincinnati. Public Health Service n.º 999-FP-1, 1964.
8. SMITH, L.D.S. — Inhibition of *Clostridium botulinum* by strains of *Clostridium perfringens* isolated from soil. *Appl. Microbiol.*, 30: 319-23, 1975.
9. SMITH, L.D.S. & HOLDEMAN, L.V. — *The pathogenic anaerobic bacteria*. Springfield, Ill., Charles C. Thomas, 1968.
10. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH, EDUCATION AND WELFARE — Botulism in U.S.A. 1899-1973. Atlanta, C.D.C., 1974.
11. WARD, B.Q. — Botulism along the eastern coast of America, south of Staten Island, N.Y. — Proceedings of the first U.S. Japan Conference on Toxic Microorganisms. p. 292-8, 1970.
12. WARD, B.Q. & CARROLL, B.J. — Presence of *Clostridium botulinum* type E in estuarine waters of the Gulf of Mexico. *Appl. Microbiol.*, 13: 502, 1965.

ANTICORPOS ANTIPOLISSACARÍDEO DE *NEISSERIA MENINGITIDIS*,
GRUPOS A E C, EM VACINADOS E EM PACIENTES COM DOENÇA
MENINGOCÓCICA PREVIAMENTE VACINADOS OU NÃO *

Augusta Kiyomi TAKEDA **
Vinício Carlos ROSSI ***
José Manoel de Paiva DINIZ **
Maria das Graças Fernandes ADELINO **
Augusto de Escragnoille TAUNAY **

RIAL-A/427

TAKEDA, A.K.; ROSSI, V.C.; DINIZ, J.M.P.; ADELINO, M.G.F. & TAUNAY, A.E. — Anticorpos antipolissacarídeo de *Neisseria meningitidis*, grupos A e C, em vacinados e em pacientes com doença meningocócica previamente vacinados ou não. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 139-146, 1975/76.

RESUMO: A resposta ao estímulo antigênico e vacina polissacarídica antimeningocócica foi avaliada pela reação de hemaglutinação passiva em indivíduos de faixas etárias de 0 a maiores de 21 anos. A vacina polissacarídica A mostrou-se mais imunogênica do que a vacina polissacarídica C. Não foi encontrada reação cruzada entre o polissacarídeo A e C.

Na doença meningocócica, a reação mostrou-se específica para os dois grupos de meningococos, permitindo diagnóstico correto de muitos casos em que falharam as outras provas diagnósticas.

Em pacientes vacinados com a vacina antimeningocócica AC, que vieram a ter a doença, a reação de hemaglutinação passiva mostrou-se ineficaz como prova diagnóstica pois a maioria dos pacientes, quando apresentaram títulos hemaglutinantes, estes eram muito baixos, sem conversão sorológica ou, quando havia conversão, não foi possível averiguar se esta era devida à vacina ou à doença.

DESCRITORES: *Neisseria meningitidis*, sorogrupos A e C; meningite meningocócica; vacina polissacarídica meningocócica.

INTRODUÇÃO

A pesquisa de anticorpos antipolissacarídeos meningocócicos pela reação de he-

maglutinação passiva foi feita por vários autores^{1, 2, 3, 4, 7, 10}, que demonstraram ser esta uma reação específica e de fácil execução.

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Do Hospital Infantil Cândido Fontoura, São Paulo, S.P.

CARBONARE *et alii*¹ verificaram que a técnica proposta por Gotschlich *et alii*, de extração do polissacarídeo grupo-específico de *Neisseria meningitidis*, poderia ser aplicada a vários outros grupos de meningococos, com a finalidade de obter um polissacarídeo grupo-específico, utilizável para reações diagnósticas das infecções meningocócicas. TAKEDA *et alii*¹⁰ demonstraram ser a reação de hemaglutinação passiva, com hemácias sensibilizadas com polissacarídeo extraído de *N. meningitidis* do grupo C, específica não só para demonstrar a presença de anticorpos hemaglutinantes no sangue de indivíduos vacinados como também em doentes com a doença meningocócica por *N. meningitidis*, grupo C.

Com o recrudescimento em 1974 do surto de meningite meningocócica devido à brusca intromissão da *N. meningitidis* do grupo A, as mesmas técnicas foram utilizadas com o fim de verificar se a reação era bastante específica a ponto de permitir diferenciar sorologicamente os casos devidos a *N. meningitidis*, grupo A e grupo C. Para essa verificação foram utilizados soros de indivíduos de várias faixas etárias que haviam sido vacinados, assim como de pacientes com diagnóstico clínico de doença meningocócica, muitos dos quais já previamente vacinados.

MATERIAL E MÉTODOS

Vacina utilizada

50 µg de polissacarídeo de *N. meningitidis* do grupo C*.

50 µg de polissacarídeo de *N. meningitidis* do grupo A**.

100 µg de polissacarídeo de *N. meningitidis* dos grupos A e C (50 µg de A e 50 µg de C)***.

Soros

a) *Resposta à vacina* — Foi avaliada em soros pareados de indivíduos pertencentes a vários grupos etários; estes soros foram colhidos antes da vacinação e 30 dias após a mesma.

b) *Resposta à doença meningocócica* — Foi avaliada em soros pareados de indivíduos com doença meningocócica, internados no Hospital Emilio Ribas, São Paulo, e no Hospital Infantil Cândido Fontoura, também em São Paulo; estes soros foram colhidos no ato da internação e por ocasião da alta.

Reação de hemaglutinação passiva

Foi feita esta reação de acordo com a técnica descrita por TAKEDA *et alii*¹⁰. A concentração de polissacarídeo utilizado foi de 1,0 µg/ml para o polissacarídeo C e 0,58 µg/ml para o polissacarídeo A.

RESULTADOS

Com o intuito de verificar a presença ou não da resposta inespecífica ou cruzada entre os polissacarídeos A ou C, meninas cuja idade variou de 7 a 17 anos foram divididas em 2 grupos. O grupo I foi vacinado com 50 µg de vacina antimeningocócica A e, 30 dias após, com a vacina antimeningocócica C; o grupo II recebeu somente a vacina antimeningocócica AC.

De acordo com a figura, a resposta imune do grupo I mostrou-se específica para o polissacarídeo A, não havendo alteração na resposta à vacina polissacarídica C; 30 dias após a vacinação com o polissacarídeo C não mostrou qualquer alteração nos títulos de anticorpos para o polissacarídeo A. Com relação ao grupo II, o resultado foi idêntico ao do grupo I, mostrando que um polissacarídeo não interfere com o outro, quando injetado simultaneamente.

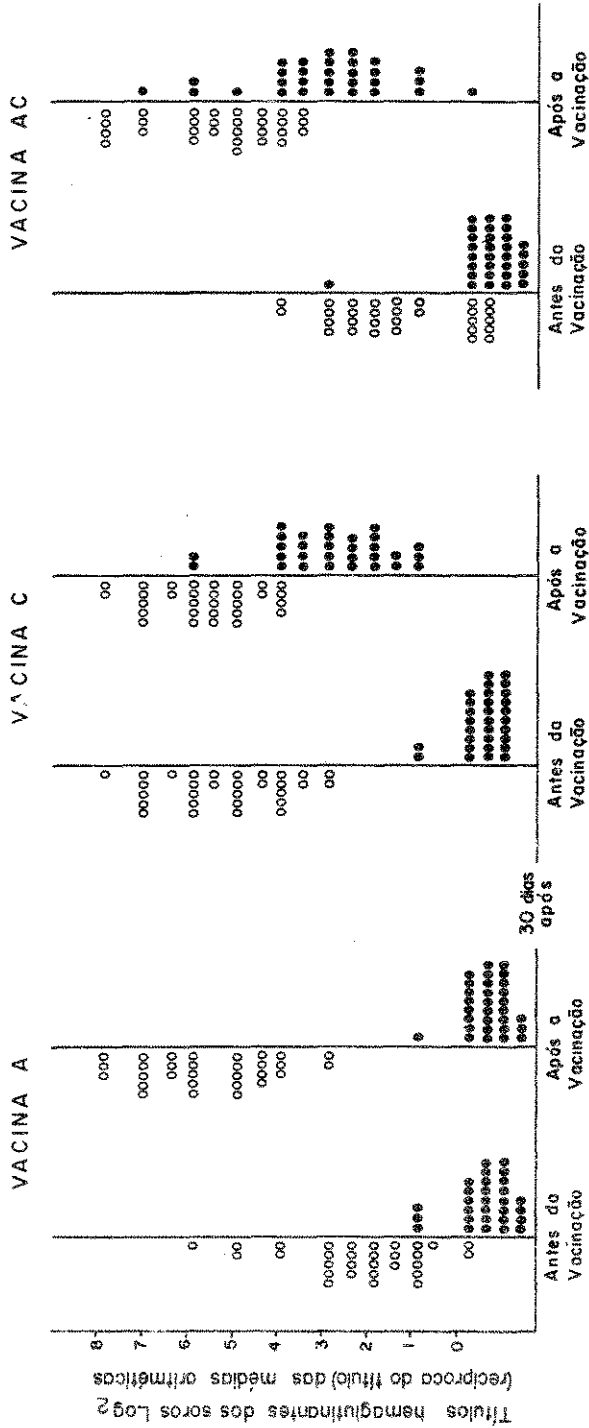
* Meningococcus group C vaccine, Merk Sharp & Dohme Research Labs., New Jersey and West Point, Pa., E.U.A.

** Meningococcus group A vaccine, Inst. Mérieux, Lion, França.

*** Meningococcus group A e C vaccine, Inst. Mérieux, Lion, França.

GRUPO II

GRUPO I



o - nº de meningos com anticorpos antipolissacarídicos do grupo A
e - nº de meningos com anticorpos antipolissacarídicos do grupo C

Resposta sorológica à vacina polissacarídica meningocócica dos grupos I (A e C) e II (AC)

O grau de imunogenicidade da vacina polissacarídica AC, em indivíduos normais de diferentes faixas etárias, está avaliado na tabela 1. De acordo com esta tabela, na faixa etária de 0 a 2 anos não foi demonstrada a existência de anticorpos específicos no sangue, antes da vacinação. Somente

5% dos componentes deste grupo desenvolveram anticorpos C específicos demonstráveis 30 dias após a vacinação e o título médio desses anticorpos foi de 19, ao passo que 56% deste grupo desenvolveram anticorpos A específicos, com o título médio de 16.

TABELA 1

Teor de anticorpos hemaglutinantes antipolissacarídeos A e C antes e após a vacinação em indivíduos normais de diferentes faixas etárias

Faixa etária	Reação de hemaglutinação passiva positiva					
	Número de indivíduos	Vacina aplicada	Antes da vacinação		Depois da vacinação	
			Percentagem %	Título Médio	Percentagem %	Título Médio
0 — 2 anos	46	A	0	0	56	16
	58	C	0	0	5	19
2 — 5 anos	73	A	0	0	57	32
		C	0	0	6	12
5 — 16 anos	182	A	32	16	95,4	81
		C	4,4	19	59,5	26
> 16 anos	850	A	15,6	15	91,7	90
		C	8,6	28	77,4	71

O mesmo foi verificado em crianças da faixa etária de 2 a 5 anos. Neste grupo, também não pôde ser detectada a presença de anticorpos hemaglutinantes pré-vacina tanto para A como para C. Trinta dias após a vacinação 57% destas crianças desenvolveram anticorpos específicos para polissacarídeos A, com título médio de 32, enquanto que, para o polissacarídeo C, apenas 6% responderam à vacina com título médio de 12.

Já na faixa etária de 5 a 16 anos, antes da vacinação, 32% destas crianças apresentaram anticorpos para o polissacarídeo A e 4,4% para o polissacarídeo C, sendo título médio, respectivamente, 16 e 19. Após a vacinação, 95,4% responderam ao polissaca-

rídeo A e 59,5% ao polissacarídeo C, com títulos médios de 81 e 26 respectivamente.

Em maiores de 16 anos, anteriormente à vacinação, 15,6% tinham anticorpos para o polissacarídeo A e 8,6% para o polissacarídeo C, com títulos médios de 15 e 28. Trinta dias após a vacinação, 91,7% responderam ao polissacarídeo A e 77,4% ao polissacarídeo C e os títulos médios foram de 90 e 71, respectivamente.

Como a reação de hemaglutinação passiva não se mostrou muito sensível em vacinados das faixas etárias abaixo de 3 anos, a mesma reação foi aplicada aos pacientes não vacinados, com diagnóstico clínico e laboratorial de meningite meningocócica, da mesma faixa etária, cujos resultados se encontram na tabela 2:

TAKEDA, A.K.; ROSSI, V.C.; DINIZ, J.M.P.; ADELINO, M.G.F. & TAUNAY, A.E. — Anticorpos antipolissacarídeo de *Neisseria meningitidis*, grupos A e C, em vacinados e em pacientes com doença meningocócica previamente vacinados ou não. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 139-146.

TABELA 2

Pacientes de 0 a 3 anos com infecção meningocócica confirmada pelo exame do líquido cefalorraquidiano

Faixa etária e N.º de casos	Líquido cefalorraquidiano			Soro	
	D.G.N. %	Cultura %	I.E.C. %	s/conversão %	c/conversão %
0 a 2 57	70,17	22,8	40,35	26,31	73,68
2 a 3 32	68,75	31,25	40,62	15,62	84,37

D.G.N. = diplococos Gram negativos

I.E.G. = imunoeletroforese cruzada

A semelhança do que ocorre com os vacinados, a reação de hemaglutinação passiva também é específica quando se trata de doentes portadores de infecção meningocócica dos grupos A ou C, que tiveram

o diagnóstico clínico confirmado pelo isolamento e identificação do agente etiológico ou pela presença de polissacarídeos no líquido cefalorraquidiano, conforme demonstra a tabela 3:

TABELA 3

Pacientes com meningite purulenta cujo agente etiológico foi identificado por cultura

N.º de casos	Cultura positiva para	I.E.C. positividade %		H.P. positividade %	
		Polissacarídeo		Polissacarídeo	
		A	C	A	C
251	<i>N. meningitidis</i> Grupo A	100	0	100	0
249	<i>N. meningitidis</i> Grupo C	0	100	0	100
104	Outras bactérias	0	0	0	0

I.E.G. = imunoeletroforese cruzada

H.P. = hemaglutinação passiva

A conversão sorológica pela reação de hemaglutinação passiva em pacientes de diferentes faixas etárias, com diagnóstico clínico de doenças meningocócica, vacinados e não vacinados, encontra-se na tabela 4.

Nos vacinados, a reação de hemaglutinação passiva, além de ser positiva somente para um número muito pequeno de casos, não apresentou variação significativa entre o título médio da primeira e da segunda

TAKEDA, A.K.; ROSSI, V.C.; DINIZ, J.M.P.; ADELINO, M.G.F. & TAUNAY, A.E. — Anticorpos antipolissacarídeo de *Neisseria meningitidis*, grupos A e C, em vacinados e em pacientes com doença meningocócica previamente vacinados ou não. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 139-146.

TABELA 4

Conversão sorológica pela reação de hemaglutinação passiva em pacientes de diferentes faixas etárias com diagnóstico clínico de doença meningocócica, vacinados e não vacinados

Faixa etária	Vacinação	N.º de casos	Com conversão sorológica		Título médio	
			n.º	%	1.ª amostra	2.ª amostra
0 - 2 anos	Sim	108	13	12,03	13	14
	Não	247	62	25,10	14,6	51,5
2 - 5 anos	Sim	102	24	23,50	26,5	19,5
	Não	174	93	53,44	65	170
5 - 16 anos	Sim	237	40	16,87	37	45
	Não	169	97	57,39	33,5	221,5
16 - 72 anos	Sim	204	53	25,98	65,5	125
	Não	97	60	61,85	52,5	156

amostra, ao contrário do que se observou no grupo de não vacinados.

Dos 180 indivíduos que não apresentaram conversão sorológica, 71 (39%) não

mostraram, em resposta à vacina ou à doença, anticorpos hemaglutinantes, tanto na primeira como na segunda amostra de soro. (Tabela 5).

TABELA 5

Presença ou ausência de anticorpos hemaglutinantes em indivíduos vacinados que tiveram doença meningocócica com comprovação laboratorial e não apresentaram conversão sorológica

Faixa etária (anos)	Hemaglutinação passiva		Total
	Positiva n.º de casos	Negativa n.º de casos	
2	9 (36%)	16 (64%)	25
3 — 5	18 (51,43%)	17 (48,57%)	35
6 — 16	26 (63,40%)	15 (36,60%)	41
> 16	56 (71,00%)	23 (29,00%)	79
	109 —	71 —	180

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A reação de hemaglutinação passiva mostrou-se específica, não apresentando reação cruzada para o polissacarídeo A ou C, permitindo avaliar a resposta à vacina polissacarídica utilizada em separado ou em conjunto.

A vacina polissacarídica AC é pouco imunogênica para a faixa etária de 0 a 2 anos, melhorando com o progredir da idade, tanto para o polissacarídeo A como para o polissacarídeo C. Os títulos de anticorpos hemaglutinantes são sempre mais baixos para a vacina C do que para a vacina A à qual responde especificamente maior número de indivíduos.

Os anticorpos hemaglutinantes anteriores à vacinação foram evidenciados somente em faixas etárias superiores a dois anos, o que pode ser atribuído à falta de sensibilização prévia pela infecção natural.

Quanto à pouca resposta imunitária à vacina nas faixas etárias baixas, pode ser atribuída ao estado imunológico peculiar das crianças, específico dos antígenos polissacarídicos, pois, para que haja resposta ao antígeno polissacarídico, é necessário que este esteja associado a uma proteína ou a outros componentes que funcionem como coadjuvante, à semelhança do que ocorre nas infecções naturais; esta hipótese parece ser a mais provável, uma vez que em 57 crianças de 0 a 2 anos foi verificada conversão sorológica em 73,68% das mesmas (tabela 3), quando acometidas pela doença meningocócica.

A aparente discrepância entre os resultados mostrados nas tabelas 2, 3 e 4 deve-se ao fato de somente terem sido computados nas tabelas 2 e 3 aqueles pacientes nos quais, além do diagnóstico clínico, havia confirmação laboratorial de doença meningocócica.

Concluimos que a reação de hemaglutinação passiva é válida não só para avaliação da imunogenicidade da vacina antimeningocócica A, C ou AC (mista), em grupos etários superiores a 2 anos, como também para o diagnóstico da doença meningocócica, permitindo diferenciação dos dois grupos de meningococos. Nos doentes previamente vacinados com a vacina antime-ningocócica os resultados foram insatisfatórios pois, nos casos em que houve conversão dos títulos, foi difícil avaliar se era devido à vacina ou à doença.

Por outro lado, na tabela 4, comparando-se os títulos de anticorpos no ato da internação e no da alta destes pacientes, verificamos que muitas vezes não houve variação no título médio entre a 1.^a e a 2.^a amostras, qualquer que fosse a faixa etária. Isto leva a acreditar que a vacinação prévia pode ter um efeito imunossupressor específico na indução de formação de anticorpos hemaglutinantes em resposta à doença, capazes de reagir com o polissacarídeo, ou que indivíduos com baixa resposta à vacina seriam do grupo susceptível à doença.

A tabela 5, em que foram analisados indivíduos vacinados com diagnóstico laboratorial de doença meningocócica, pode comprovar que existe uma certa percentagem de indivíduos que não responde ao estímulo antigênico, quer da vacina quer da doença. Poderiam ser estes indivíduos considerados como geneticamente tolerantes a estes antígenos?

Apesar de não se poder afirmar que a presença de anticorpos hemaglutinantes significa proteção contra a doença, esta constatação representa um fato novo que está sendo objeto de outras investigações.

RIAL-A/427

TAKEDA, A.K.; ROSSI, V.C.; DINIZ, J.M.P.; ADELINO, M.G.F. & TAUNAY, A.E. — Antibodies to polysaccharide of *Neisseria meningitidis*, serogroups A and C in normal vaccinated persons and in patients with meningococcal disease previously vaccinated or not. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 139-146, 1975/76.

SUMMARY: The response to the antigenic stimulus of meningococcal polysaccharide vaccine was evaluated through passive haemagglutination in individuals in the age group of 0 to older than 21 years old. Vaccine A was found to be more immunogenic than vaccine C. No cross reactions were found between A and C polysaccharides. The reaction proved to be specific for both groups of meningococcus, thus allowing correct diagnosis of meningococcal disease in many instances where other diagnostic test have failed. The passive haemagglutination was ineffective as a diagnostical test in patients who had been vaccinated with AC anti-meningococcal vaccine, because most of these patients presented low haemagglutinating titres without serological conversion and, when it was present, it was not possible to know whether it was due to the vaccine or to the disease.

DESCRIPTORS: *Neisseria meningitidis*, serogroups A and C; meningitis, meningococcal; vaccine, meningococcal polysaccharide.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CARBONARE, S.B.; TAKEDA, A.K. JORDÃO, F.B.M. & TAUNAY, A.E. — Especificidade imunológica dos polissacarídeos extraídos de diferentes grupos de *Neisseria meningitidis*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 119-25, 1974.
2. COHEN, R.L. & ARTENSTEIN, M.S. — Hemagglutination inhibition for serogrouping of *Neisseria meningitidis*. *Appl. Microbiol.*, 23: 289-92, 1972.
3. EDWARDS, E.A. & DRISCOLL, W.S. — Group-specific hemagglutination test for *Neisseria meningitidis* antibodies. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 126: 876-9, 1967.
4. EICKHOFF, T.C. — Sero-epidemiologic studies of meningococcal infection with the indirect hemagglutination test. *J. infect. Dis.*, 123 (5): 519-26, 1971.
5. HAMMOND, B.W.; KINGSBURY, D.T. & WEISS, E. — Modification of meningococcal polysaccharide antigens for use in passive hemagglutination tests. *J. Immunol.*, 101: 808-9, 1968.
6. HUNTLEY, B. & REED, D. — An indirect hemagglutination test for group B meningococcus. *Am. J. Epidem.* 86: 142-8, 1967.
7. JONES, D.M. & TOBION, D.M. — Incidence of hemagglutination antibodies to meningococci in North-West England. *J. clin. Pathol.*, 25: 955-8, 1972.
8. ROSSI, V.C.; DINIZ, J.M.P.; ADELINO, M.G.F.; TAKEDA, A.K.; TAUNAY, A.E. & CANDIO, S. — Resposta humoral aos polissacarídeos obtidos da *N. meningitidis* dos grupos A e C utilizados na vacinação e revacinação antimeningocócica. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 37, 1977. [No prelo]
9. SANBORN, W.R. & VEDROS, N.A. — Possibilities of application of complement fluorescent antibody test to epidemiology fixation, indirect hemagglutination and of meningococcal infection. *Hyg. Lab. Sci.*, 3: 311-7, 1966.
10. TAKEDA, A.K. TAUNAY, A. E. SCALABRINI, L.G.P. & CASTRO, I.O. — Anticorpos antipolissacarídeo C de *Neisseria meningitidis*: detecção através da hemagglutinação passiva em soros de pacientes e de vacinados. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 127-33, 1974.

Recebido para publicação em 10 de dezembro de 1975.