



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

REVISTA
do
INSTITUTO
ADOLFO LUTZ

REVISTA

DO

INSTITUTO

ADOLFO LUTZ

REDATOR RESPONSÁVEL

AUGUSTO DE ESCRAGNOLLE TAUNAY

Diretor do Instituto Adolfo Lutz

COMISSÃO DE REDAÇÃO

MARCELO OSWALDO ALVARES CORRÊA, *Presidente*

ELISEU ALVES WALDMAN

EMÍLIA HIDA

LUÍS FLORENCIO DE SALLES GOMES

MARINA YOSHIE SAKAMOTO

MÁRIO FRANKLIN SCARPELLI

PEDRO PAULO CHIEFFI

MERCEDES DELLA FUENTE, *Secretário*

REDATOR-SECRETÁRIO

DEBORA DOMINGUES ESTRELLA REBOCHO

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

Endereço/address

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

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

(*)

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

1941-1978, 1-38
1979, 39(1,

ISSN 0073 — 9855
RIALA6

CDD₁₈ 614.07205



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

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

SUMÁRIO/CONTENTS

- 468 Antígeno metílico de *Trypanosoma cruzi* para fixação de complemento. Extração a temperatura ambiente. (Nota prévia)
Methylic antigen of Trypanosoma cruzi for complement fixation test. Extraction at room temperature. (Previous note)
Ettore RUGAI; Mirthes UEDA; Paulo Mutuko NAKAMURA & Manoel de BRITTO e SILVA 1-3
- 469 Teor de mercúrio em águas da baixada santista, São Paulo
Mercury content of waters from Baixada Santista, São Paulo
Waldomiro PREGNOLATTO; Myriam de TOLEDO & Neusa SANTESSO 5-15
- 470 Leptospiroses. Estudo sorológico entre habitantes de ilhas do litoral sul do Estado de São Paulo
Leptospiroses. Serological survey among the inhabitants of islands along the southern seashore of the state of São Paulo
Roberto FOCACCIA; José Roberto C. BAZONE; Saburo HYAKUTAKE; Celso Carmo MAZZA; Chaie FELDMAN & Ricardo VERONESI ... 17-23
- 471 Reservatórios silvestres do *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* Chagas, 1909
Wild reservoirs of Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi Chagas, 1909
Mauro Pereira BARRETTO & Rosa Domingues RIBEIRO 25-36
- 472 Condições higiênico-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de São Paulo, SP, Brasil
Bacteria in vegetables sold in the city of São Paulo, SP, Brazil
Dilma Scala GELLI, Takako TACHIBANA; Irani Rodrigues de OLIVEIRA; Claydes de Quadros ZAMBONI; Judirce Arruda PACHECO & Nazareth SPITERI 37-43
- 473 Flutuação mensal na densidade de populações malacológicas em criadouros natural do município de Londrina, Estado do Paraná, Brasil
Monthly variation of mollusc populations in a natural pond of Londrina country, state of Paraná, Brazil
Pedro Paulo CHIEFFI & Itagiba G. MORETTI 45-50
- 474 Verificação qualitativa da atividade antimicótica do nitrato de miconazol
Qualitative verification of the antimycotic activity of miconazol nitrate
Helena Ide ALVES; Walter ALVES & Décio Bianco SALES 51-53

475	Estabilidade do β -caroteno em massas alimentícias vitaminadas <i>The stability of β-carotene in vitamin-enriched flour foods</i> Myrna SABINO; Emiko I. INOMATA & Waldomiro PREGNOLATTO	55-59
476	Ocorrência de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Escherichia coli</i> e de bacterias mesófilas em ostras <i>Occurrence of Vibrio parahaemolyticus, Escherichia coli and mesophilic bacteria in oysters</i> Dilma Scala GELLI; Takako TACHIBANA & Harumi SAKUMA ..	61-66
477	Determinação da adição de óleo de soja a outros óleos vegetais comestíveis por cromatografia em fase gasosa <i>Disclosure of soybean oil and other vegetable oils as food additives through gas-liquid chromatography</i> Paulo de Almeida VIDAL; Almir José RICCIARDI & Jacob Fernando FERREIRA	67-77
478	<i>Filaria dermathemica</i> e oncocercose. (En Brasil se descubrió la oncocercosis en 1875) <i>Filaria dermathemica and oncocercosis. (Oncocercosis was discovered in Brazil, in 1875)</i> Marcelo O. A. CORRÊA & Mário A. P. MORAES	79-83
479	Estudo epidemiológico de surto de leptospirose ocorrido na cidade do Salvador, Bahia, em maio e junho de 1978 <i>Epidemiologic study of the leptospirosis outbreak occurring in Salvador, Bahia, in May and June, 1978</i> Eulógio Moreira CALDAS; Marilena B. SAMPAIO; Everaldo COSTA & Genaro MIRANDA	85-94
	ÍNDICE DE AUTOR/AUTHOR INDEX	95
	ÍNDICE DE ASSUNTO	96
	SUBJECT INDEX	97

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 officio (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 fotografias 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 (*Bol. UNESCO Bibl.*, 23:72-7, 1969). A fim de facilitar a indexação, o resumo deverá conter:

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

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

No texto — Serão citadas por meio de número índice correspondente ao da lista de referências; assim, para um autor: ... TAUNAY³¹ verificou ...; para dois autores: ... LEME & CARRIJO¹⁹, pesquisando ...; para mais de dois autores: ... No trabalho de TSUNODA *et alii*⁶; ou ainda ... segundo vários autores^{1, 2, 7, 8}.

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

Para artigos de periódicos

Último sobrenome do(s) autor(es) seguido das iniciais dos outros componentes do nome, título do artigo, título do periódico abreviado (*World list of scientific periodicals*, 4th ed. London, Butterworths, 1963-65. 3 v.), em grifo, n.º do volume, n.º do fascículo (quando a numeração não for continuada), páginas inicial e final do artigo, data da publicação do volume ou fascículo.

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

Para livros

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

Ex.

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

Rev. Inst. Adolfo Lutz
39(1), 1979.

DA PUBLICAÇÃO

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

DA DISTRIBUIÇÃO

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

ÍNDICE DE AUTOR/AUTHOR INDEX

ALVES, H. I., 51
ALVES, W., 51
BARRETO, M. P., 25
BAZONE, J. R. C., 17
BRITTO e SILVA, M., 1
CALDAS, E. M., 85
CHIEFFI, P. P., 45
CORRÊA, M. O. A., 79
COSTA, E., 85
FELDMAN, C., 17
FERREIRA, J. F., 67
FOCACCIA, R., 17
GELLI, D. S., 37, 61
HYAKUTAKE, S., 17
INOMATA, E. I., 55
MAZZA, C.C., 17
MIRANDA, G., 85
MORAES, M. A. P., 79
MORETTI, I. G., 45
NAKAMURA, P. M., 1
OLIVEIRA, I. R., 37
PACHECO, J. A., 37
PREGNOLATTO, W., 5, 55
RIBEIRO, R. D., 25
RICCIARDI, A. J., 67
RUGAI, E., 1
SABINO, M., 55
SAKUMA, H., 61
SALES, D. B., 51
SAMPAIO, M. B., 85
SANTESSO, N., 5
SPITERI, N., 37
TACHIBANA, T., 37, 61
TOLEDO, M., 5
UEDA, M., 1
VERONESI, R., 17
VIDAL, P. A., 67
ZAMBONI, C. Q., 37

INDICE DE ASSUNTO

- Ácido linolênico, determinação
em óleos vegetais comestíveis
cromatografia em fase gasosa, 67
- Água
poluição por mercúrio, 5
- Animais silvestres
reservatórios de doenças
tripanossomíase americana, 25
- Antígenos
Trypanosoma cruzi, 1
- Antimicótico
Nitrato de miconazol, 51
- Bactérias mesófilas
em ostras, 61
- Biomphalaria glabrata*, 45
- Biomphalaria tenagophila*, 45
- Candida albicans*, 51
- Candida tropicalis*, 51
- Carotenos
 β -caroteno
em massas alimentícias vitaminadas
determinação, 55
- Doença de Chagas
veja Tripanossomíase americana
- Escherichia coli*
em ostras, 61
- Filariase, 79
- Fungos
Candida albicans, 51
Candida tropicalis, 51
Microsporium canis, 51
Tricophyton rubrum, 51
Tricophyton violaceum, 51
- Hortalças
contaminantes microbianos, determinação, 37
contaminantes parasitários, determinação, 37
- Leptospirose humana
enchentes
Salvador, Bahia, Brasil, 85
sorotipos
São Paulo (litoral), Brasil, 17
surto epidemiológico
Salvador, Bahia, Brasil, 85
- Massas alimentícias vitaminadas
 β -caroteno, determinação, 55
- Mercúrio
em água, determinação, 5
- Microsporium canis*, 51
- Moluscos
densidade populacional, 45
- Nitrato de miconazol
atividade antimicótica, 51
- Óleo de soja
ácido linolênico, determinação, 67
- Óleos vegetais comestíveis
fraude pela adição do óleo de soja, 67
- Oncocercose, 79
- Ostras
contaminantes microbianos, 61
- Planorbídeos
Biomphalaria glabrata, 45
Biomphalaria tenagophila, 45
- Pomacea* sp., 45
- Reservatórios de doenças
animais silvestres
tripanossomíase americana, 25
- Schistosoma mansoni*, 45
- Tricophyton rubrum*, 51
- Tricophyton violaceum*, 51
- Tripanossomíase americana
diagnóstico, 1
reservatórios de doenças
animais silvestres, 25
- Tripanossomíase sul-americana
veja Tripanossomíase americana
- Trypanosoma cruzi*
antígenos, 1
em animais silvestres, 25
- Vibrio parahaemolyticus*
em ostras, 61

SUBJECT INDEX

- Antigens
Trypanosoma cruzi, 1
- Bacteria
mesophilic bacteria
in oysters, 61
- Biomphalaria glabrata*, 45
- Biomphalaria tenagophila*, 45
- Candida albicans*, 51
- Candida tropicalis*, 51
- Carotenes
 β -carotene
in vitamin-enriched flour foods
determination, 55
- Chagas'disease
see Trypanosomiasis
- Diseases reservoirs
wild animals
trypanosomiasis, South American, 25
- Drugs
antimycotic drug
myconazol nitrate, 51
- Escherichia coli*
in oysters, 61
- Filariasis, 79
- Flour foods
vitamin-enriched flour foods
 β -carotene determination, 55
- Fungi
Candida albicans, 51
Candida tropicalis, 51
Microsporium canis, 51
Tricophyton rubrum, 51
Tricophyton violaceum, 51
- Leptospirosis, human
floods
Salvador, Bahia, Brazil, 85
outbreak
Salvador, Bahia, Brazil, 85
serotypes
São Paulo (seashore) Brasil, 17
- Linolenic acid, determination
in edible vegetable oils
gas-liquid chromatography, 67
- Mercury
in water, determination, 5
- Microsporium canis*, 51
- Molluscs
populational density, 45
- Myconazol nitrate
antimycotic activity, 51
- Oils
edible vegetable oils
adulteration by addition of soybean oil, 67
soybean oil
linolenic acid determination, 67
- Onchocerciasis, 79
- Oysters
microbial contaminants, 61
- Planorbids
Biomphalaria glabrata, 45
Biomphalaria tenagophila, 45
- Pomacea* sp., 45
- Schistosoma mansoni*, 45
- Soybean oil
linolenic acid determination, 67
- Tricophyton rubrum*, 51
- Tricophyton violaceum*, 51
- Trypanosoma cruzi*
antigens, 1
in wild animals, 25
- Trypanosomiasis, South American
diagnosis, 1
diseases reservoirs
wild animals, 25
- Vegetables
microbial contaminants determination, 37
parasite contaminants determination, 37
- Vibrio parahaemolyticus*
in oysters, 61
- Water
mercury pollution, 5

ANTÍGENO METÍLICO DE *TRYPANOSOMA CRUZI* PARA FIXAÇÃO DE COMPLEMENTO. EXTRAÇÃO A TEMPERATURA AMBIENTE (Nota prévia) *

Ettore RUGAI **
Mirthes UEDA ***
Paulo Mutuko NAKAMURA ***
Manoel de BRITTO e SILVA ***

RIALA6/468

RUGAI, E.; UEDA, M.; NAKAMURA, P.M. & BRITTO e SILVA, M. — Antígeno metílico de *Trypanosoma cruzi* para fixação de complemento. Extração a temperatura ambiente. (Nota prévia). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):1-3, 1979.

DESCRITORES: *Trypanosoma cruzi*; antígenos; doença de Chagas; tripanossomíase americana, diagnóstico.

INTRODUÇÃO

Diversos antígenos, diferenciáveis pelo modo de preparação, já foram utilizados para o imunodiagnóstico da infecção chagásica, através da reação de fixação de complemento.

GUERREIRO & MACHADO⁷, em 1913, prepararam o primeiro antígeno, a partir de órgãos de cães infectados com *Trypanosoma cruzi*. Diversos autores, após esta data, obtiveram preparações antigênicas, utilizando técnicas que se diferiam em pequenos detalhes.

Mais tarde, começou-se a empregar culturas *in vitro* de *Trypanosoma cruzi* para extração de antígenos. ROMAÑA & DIAS¹⁰, em 1942, utilizaram processo de purificação em acetona, com posterior extração com álcool etílico absoluto. Em 1943, DAVIS⁵ utilizou suspensão salina de tripanossomo, obtido em culturas *in vitro*, promovendo extração antigênica através de congelação e descongelação. MUNIZ & FREITAS⁹, em 1944, modificaram a técnica empregada por Davis, a fim de simplificar o método de preparação, obtendo bons resultados.

FREITAS & ALMEIDA⁸, em 1949, para executar a reação de fixação de complemento

CH₅₀%, no diagnóstico da doença de Chagas, prepararam um antígeno a partir de culturas de tripanossomos empregando extração benzeno-cloroformada.

CHAFFEE *et alii*⁴, por outro lado, em 1956, obtiveram um preparado em que utilizavam processo de purificação em éter etílico anidro. BATISTA & SANTOS², em 1959, utilizaram antígeno empregando metanol na extração da fração antigênica. BARACCHINI *et alii*², em 1966, após a purificação dos tripanossomos em acetona, efetuaram a extração do antígeno com metanol, a temperatura de 120°C.

No presente relato, os autores descrevem a técnica de preparação do antígeno metílico, no qual todas as etapas são efetuadas a temperatura ambiente.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os tripanossomos foram cultivados em meio de cultura, segundo RUGAI & RUGAI¹¹ e RUGAI & SOUZA¹². As culturas foram incubadas a 26-28°C, durante 10 a 15 dias. O meio líquido

* Trabalho em andamento na Seção de Sorologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Biologista aposentado do Instituto Adolfo Lutz.

*** Do Instituto Adolfo Lutz.

foi então filtrado em camada de gaze e em camada de algodão e centrifugado a 2.000 rpm, durante 20 a 30 minutos, e o sedimento foi lavado por três vezes com solução salina estéril.

Ao sedimento obtido adicionou-se acetona p.a., na proporção de 10 ml deste solvente para cada ml de sedimento de tripanossomo. Após a centrifugação, adicionou-se o mesmo volume de acetona, efetuando-se esta operação por mais duas vezes. Para evaporação da acetona a fim de obter o pó seco de tripanossomo, após a última decantação do líquido, levou-se o frasco à centrífuga por mais 15 a 20 minutos, a 3.000 rpm, ou então colocou-se o frasco num cristalizador a vácuo. O pó seco foi então pesado e transferido para uma coluna de vidro de 20 cm de comprimento por 1,5 cm de diâmetro, em cuja extremidade inferior existem dois estrangulamentos e um colo estreito; entre os dois estranguladores introduziu-se um chumaço de algodão e, na extremidade inferior, um pedaço de tubo de borracha e uma pinça de Bünsen ou de Castaloy para regular o fluxo de líquido.

Adicionou-se, então, acetona p.a. sobre o pó contido na coluna (na proporção de 0,1 g de pó/30 ml de acetona) e deixou-se escoar o solvente, de modo que o fluxo de escoamento fosse de 1 gota/10 seg, completando-se a remoção da acetona por meio de bomba a vácuo.

Ao pó seco de tripanossomo, adicionou-se álcool metílico p.a. desidratado*, na proporção de 0,1 de pó/30 ml de metanol.

O álcool metílico foi deixado em contato com o pó de tripanossomo no mínimo por uma hora; foi então efetuada a "percolação", deixando escoar o eluato lentamente, de maneira que o fluxo de escoamento fosse de 1 gota/10 seg.

O extrato límpido obtido consistiu em antígeno metílico de *Trypanosoma cruzi*, para a reação de fixação de complemento.

Para determinar o título ou a dose ótima deste antígeno, para as reações de fixação de complemento de rotina, foi realizada a dosagem em bloco (cruzada) contra um soro reagente conhecido com título 1:32. A técnica foi a de Kolmer, modificada¹, na qual se empregaram 2 unidades de complemento, 5 unidades de hemolisina anticarneiro e hemácias de carneiro a 2%. A incubação da reação foi feita em banho-maria a 37°C, durante 90 minutos. Após o acréscimo do sistema indicador, seguiu-se nova incubação em banho-maria a 37°C, durante 30 minutos, após o que foi efetuada a leitura.

Nos diferentes lotes de antígenos preparados a partir dos dois meios de cultura acima referidos, a dose ótima ou títulos obtidos nestas titulações foi em média de 1:80.

Este reagente, assim obtido, demonstrou ser desprovido da atividade anticomplementar em 5 diferentes lotes preparados. Mostrou ser, ainda, antígeno bastante específico, não apresentando reações cruzadas, quando foi testado com soros reagentes para sífilis, toxoplasmose e mononucleose infecciosa. Evidenciou, ainda, ser de boa reprodutibilidade, uma vez que, em todos os lotes preparados, a dose ótima a ser empregada foi sempre ao redor do mesmo título.

Pelos testes efetuados em diferentes temperaturas, este antígeno apresentou ótima estabilidade. Quando mantido em estufa a 37°C, e observado até 2 meses, não demonstrou qualquer alteração no seu título. Mantido a temperatura ambiente, o título do antígeno não variou mesmo após um ano. Conservado a 4°C, em geladeira, não demonstrou alteração no seu título, mesmo após dois anos de observação.

Experimentos mais detalhados sobre este antígeno estão em andamento em nosso laboratório.

RIALA6/468

RUGAI, E.; UEDA, M.; NAKAMURA, P.M. & BRITTO e SILVA, M. — Methylc antigen of *Trypanosoma cruzi* for complement fixation test. Extraction at room temperature. (Previous note). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1): 1-3, 1979.

DESCRIPTORS: *Trypanosoma cruzi*; antigens; Chagas'disease; trypanosomiasis, South American, diagnosis.

* A desidratação do álcool metílico foi feita previamente, acrescentando-se a este reagente sulfato de sódio p.a., na proporção de 10%, para eliminar uma eventual umidade excessiva.

RUGAI, E.; UEDA, M.; NAKAMURA, P.M. & BRITTO e SILVA, M. — Antígeno metílico de *Trypanosoma cruzi* para fixação de complemento. Extração a temperatura ambiente. (Nota prévia). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1): 1-3, 1979.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARACCHINI, O. & BRITTO e SILVA, M. — Emprêgo da técnica de Kolmer, modificada, na fixação de complemento, usando antígeno metílico de *Trypanosoma cruzi* no diagnóstico da doença de Chagas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 29/30: 73-9, 1969/70.
2. BARACCHINI, O.; COSTA, A. & CARLONI, J. — Emprêgo do calor à temperatura de 120°C e do metanol no preparo de antígeno de *Trypanosoma cruzi*. *Hospital*, 70:81-4, 1966.
3. BATISTA, S.M. & SANTOS, U.M. — Antígeno metílico de cultura de *Schizotrypanum cruzi*. *Hospital*, 56:1045-51, 1959.
4. CHAFFEE, E.F.; FIFE, E.H. & KENT, J.F. — Diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection by complement fixation. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 5:763-71, 1956.
5. DAVIS, D.J. — An improved antigen for complement fixation in American trypanosomiasis. *Publ. Hlth. Rep.*, 58:775-7, 1943.
6. FREITAS, J.L.P. & ALMEIDA, J.O. — Nova técnica de fixação de complemento para moléstia de Chagas. (Reação quantitativa com antígeno gelificado de culturas de *Trypanosoma cruzi*). *Hospital*, 35:787-800, 1949.
7. GUERREIRO, C. & MACHADO, A. — Da reação de Bordet e Gengou na moléstia de Carlos Chagas como elemento diagnóstico. (Nota preliminar). *Bras. Méd.*, 27:225-6, 1931.
8. MOURÃO, O.G. & MELLO, O.C. — Hemoculturas para o diagnóstico parasitológico na fase crônica da doença de Chagas. *Rev. Soc. bras. Med. trop.*, 9:183-9, 1975.
9. MUNIZ, J. & FREITAS, G. — Contribuição para o diagnóstico da Doença de Chagas pelas reações de imunidade. I. Estudo comparativo entre as reações de aglutinação e de fixação de complemento. *Mems Inst. Oswaldo Cruz*, 41:303-33, 1944.
10. ROMANA, C. & DIAS, E. — Reação de fixação de complemento na Doença de Chagas, com antígeno alcóolico de cultura de *Schizotrypanum cruzi*. *Mems Inst. Oswaldo Cruz*, 37:1-10, 1942.
11. RUGAI, E. & RUGAI, R.T. — Meio de cultura para *Trypanosoma cruzi* esterilizável pelo calor. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 25/27:61-3, 1965/67.
12. RUGAI, E. & SOUZA, A.M. — Método de cultura de *Trypanosoma cruzi* em larga escala por arejamento (borbulhamento de ar). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 29/30: 61-3, 1969/70.

Recebido para publicação em 18 de janeiro de 1979.

TEOR DE MERCÚRIO EM ÁGUAS DA BAIXADA SANTISTA SÃO PAULO *

Waldomiro PREGNOLATTO **

Myriam de TOLEDO **

Neusa SANTESSO **

RIALAG/469

PREGNOLATTO, W.; TOLEDO, M. & SANTESSO, N. — Teor de mercúrio em águas da baixada santista, São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):5-15, 1979.

RESUMO: O problema da poluição por mercúrio foi posto em evidência recentemente devido principalmente a três acontecimentos observados isoladamente: uma epidemia em uma colônia de pescadores japoneses, o brusco aumento na morte de pássaros silvestres na Suécia e a descoberta nos Estados Unidos de peixes com altos níveis de mercúrio. No Brasil, a primeira evidência de poluição por mercúrio foi constatada em 1966 quando os agricultores, especialmente os produtores de tomates, começaram a usar pesticidas mercuriais, principalmente no combate aos fungos. Em 1974, amostras de peixes oriundas do Rio Grande do Sul evidenciaram estar contaminadas com mercúrio o que levou a uma pesquisa da condição dos peixes do litoral paulista, que se mostraram limpos. No início de 1975, foi anunciada uma grande contaminação por mercúrio das águas do litoral baiano, o mesmo acontecendo com relação às águas da baixada santista, em meados do mesmo ano, quando 40 amostras de água foram colhidas em diferentes pontos, tanto na superfície como em locais mais profundos a partir do rio Cubatão, na altura da ponte da Via Anchieta até a Ponte Pênsil, em São Vicente. 38 amostras acusaram teor de mercúrio abaixo de 0,001 ppm e 2, justamente na altura do despejo do esgoto de Cubatão, no rio do mesmo nome, acusaram respectivamente 0,001 e 0,0015 ppm de mercúrio.

DESCRIPTORIOS: mercúrio em água, determinação; água, poluição por mercúrio.

INTRODUÇÃO

O mercúrio, desde há muito, tem despertado a atenção e o interesse de filósofos e cientistas. As escritas mais primitivas indicam que esse elemento químico e seus compostos eram usados como cosméticos e para fins medicinais, além do que suas características interessantes e únicas, como a alta densidade, a volatilidade e a capacidade de dissolver alguns metais o envolveram e ainda envolvem em crenças e folclore de alguns povos ^{6, 7}.

Foi a partir de 1557, quando Bartolomeu de Medina desenvolveu o processo de obtenção da

prata pela amalgamação, que o mercúrio e seus compostos começaram a ser intensamente explorados pelo homem ⁷. Atualmente o mercúrio é usado na forma metálica ou composta, principalmente como agente antifúngico protetor de sementes na agricultura; nos processos que envolvem amálgamas; como catalisador; nas preparações de restaurações odontológicas; na manufatura do papel; nos processos eletrolíticos para a obtenção de cloretos e de soda cáustica; nas instalações elétricas, além de ter largo emprego na indústria farmacêutica e cosmética ^{4, 5, 6, 21, 22, 24}.

* Realizado na Seção de Equipamentos Especializados do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.
** Do Instituto Adolfo Lutz.

Esse amplo uso do mercúrio pressupõe sua ocorrência natural e, evidentemente, a poluição ambiental decorrente desse uso. Esse elemento químico é encontrado em jazidas e em outros depósitos geológicos, principalmente sob a forma de cinábrio — HgS. Na natureza, o mercúrio participa de reações químicas e sofre reciclagem: os sais mercuriais, depositados nas áreas de atividade vulcânica, a poucas centenas de metros da superfície da terra, são naturalmente reduzidos a mercúrio metálico que, por ser volátil, aflora à superfície, onde pode reagir com o enxofre e ser fixado sob a forma de sulfeto (cinábrio); ainda, pela pressão de vapor e da temperatura da atmosfera, o mercúrio pode alcançar uma concentração no ar em torno de 10 mg/m³, seja na forma vaporizada ou de partículas metálicas. O mercúrio da atmosfera é depositado sobre a crosta terrestre pela chuva e neve, tanto no solo como na água. Portanto, esse elemento químico pode ser naturalmente disseminado, transportado pelo vento e depositado pelas intempéries. Evidentemente, na atmosfera das áreas de jazidas e das circunvizinhanças, os níveis de concentração desse metal são maiores; em contraposição, no ambiente marinho está em menores quantidades ^{6, 9, 12, 24}.

A concentração média do mercúrio natural sobre a crosta terrestre é de cerca de 0,5 ppm. O uso dos compostos mercuriais pelo homem, entretanto, pode alterar quantitativamente a sua presença no solo e água. Wershaw verificou que 83% dentre 73 amostras de água coletadas de áreas geográficas diferentes dos Estados Unidos apresentaram níveis inferiores a 0,001 ppm de mercúrio e 2, procedentes de áreas com depósitos naturais desse elemento, apresentaram níveis superiores a 0,005 ppm ⁶. KLEIN ¹², em pesquisa semelhante, concluiu que as águas de lagos, represas e rios não poluídos do nordeste norte-americano contêm mercúrio a níveis ao redor de 0,000055 ppm. Na água do mar, BURTON & LEATHERLAND ² encontraram níveis de 0,000014 a 0,000021 ppm na região além da costa inglesa, enquanto LEATHERLAND *et alii* ¹⁰, analisando amostras superficiais coletadas na costa do nordeste inglês, encontraram valores de 0,000013 a 0,000018 ppm e, nas amostras de águas profundas da mesma área, os níveis foram ainda menores. Já na costa do Japão, KLEIN & GOLDBERG ¹³ registraram níveis mais altos: 0,0001 ppm nas amostras coletadas na superfície e de 0,00015 a 0,00027 ppm nas coletadas em profundidade. JOENSUU ⁹, estudando fósseis, calculou que a quantidade de mercúrio levada aos oceanos é da ordem de 20,9 x 10⁴ kg/ano.

A poluição do ambiente pelo mercúrio eleva a muito esses níveis; na baía de Minamata, próximo ao canal de descarga de uma indústria, KITAMURA ^{11, 25} encontrou 2010 ppm (p/p) de mercúrio nos sedimentos de um rio, quantidade essa que diminuía em função da distância deste canal. KONRAD ¹⁴ detectou 684 ppm desse elemento no sedimento de um rio em Wisconsin, também perto de uma indústria de

hidróxido de sódio que usava o mercúrio como catalizador; a 1,5 km, rio abaixo, o nível encontrado foi de 12 ppm. TURNEY ²⁷, em Michigan, pesquisando a causa da mortandade de peixes, concluiu ter sido a descarga industrial de acetato de fenilmercúrio que provocou essa catástrofe. Devastações semelhantes que afetam aves e o homem têm sido discutidas, revelando que o uso irresponsável do mercúrio e de seus compostos oferece risco à saúde dos organismos vivos ^{5, 6, 17, 20, 21, 25, 26}.

Compostos mercuriais são absorvidos pelo organismo, seja por ingestão ou inalação e, por disseminação sanguínea, alcançam todos os tecidos. A toxicidade se manifesta principalmente por disfunções nervosas, pois estes compostos lesam o sistema nervoso periférico, o cérebro, a audição, a visão e os tratos piramidais, de forma irreversível ^{6, 15, 25}.

Dentre os compostos organo-mercuriais utilizados principalmente na agricultura, estão os que pertencem ao grupo alquil, como exemplo os metil e etil mercuriais, ao grupo decoxialquil, que têm o metoxil como exemplo, e os do grupo aril. Os alquílicos são os que oferecem riscos e danos maiores à saúde. Entretanto, WOOD *et alii* ²⁰ verificaram que mesmo o mercúrio inorgânico existente nas águas pode ser biotransformado em metilmercúrio (grupo alquil) pela ação de determinadas bactérias, o que foi confirmado amplamente por JENSEN & JERNELOV ⁸, segundo os quais, independentemente da forma química, o risco de intoxicação está sempre presente por causa desta biotransformação e da cadeia alimentar. Segundo PEAKALL & LOVETT ²², as espécies de organismos vivos terrestres são capazes de assimilar e concentrar o mercúrio em quantidades de 2 a 3 vezes maiores que a do ambiente que as circunda, e as espécies de organismos aquáticos o concentram de 100 a milhares de vezes, em comparação com o ambiente. GOLDWATER ⁴, que estudou o mercúrio e o meio ambiente, resumiu a sua relação com a cadeia alimentar marinha: plantas, como as algas, absorvem-no e concentram-no em altos níveis; peixes que consomem essas algas e vivem nesse mesmo ambiente concentram-no em níveis ainda maiores. Hannerz verificou experimentalmente que o bacalhau, exposto por 2 dias ao ambiente (água e alimentos) contaminado por mercúrio, concentrou-o a nível 388 vezes maior do que o existente na água e que o cação, após 3 dias nas mesmas condições, apresentou nível 783 vezes maior que o encontrado na água e 70 vezes maior que o encontrado no alimento predominante; a forma química do mercúrio, nesses peixes, era a do metoxietilmercúrio ⁶.

As espécies biológicas, pelo exposto, podem ser usadas como sentinelas da existência da poluição mercurial a níveis perigosos. Em 1960, os pesquisadores suecos começaram a preocupar-se com este tipo de poluição ao verificarem que animais selvagens continham mercúrio em níveis considerados letais. Em 1969, JOHNELS & WESTMARK ¹⁰ verificaram que aves silvestres estavam sendo dizimadas por causa do mercúrio; comparando-as com es-

pécimens de museu, concluíram que os níveis de mercúrio nas penas das aves começou a aumentar a partir de 1940, coincidindo com a introdução dos compostos organomercuriais na agricultura na Suécia e que as sementes tratadas estavam sendo consumidas por essas aves. Em 1965, WESTMARK *et alii* já haviam constatado que os peixes de rios e lagos daquele país continham níveis altos de mercúrio, assim como os peixes capturados próximo à costa, o que não acontecia com os do alto mar⁶.

Além das catástrofes já citadas entre os peixes, nos Estados Unidos²⁷ e entre as aves, na Suécia¹⁰, o episódio calamitoso de Minamata, Japão, 1956, que afetou o homem, caracterizou-se pela severidade: de 111 casos registrados, 41 foram fatais e, entre os sobreviventes, as lesões do sistema nervoso apresentaram gravidade, com grande percentagem de indivíduos inválidos fisicamente. Apesar de já ter sido feita a descrição dos sintomas de intoxicação pelos compostos mercuriais, por HUNTER *et alii*, em 1940, neste episódio MCALPINE & ARAKI¹⁷ conseguiram estabelecer, por levantamentos epidemiológicos realizados, a associação consumo de peixe/doença e relacioná-la com o peixe procedente da baía de Minamata; porém, não conseguiram determinar o agente causador. Em 1962, ainda no Japão, 26 pessoas, com 5 casos fatais, foram vitimadas por epidemia semelhante, em Niigata, cidade situada ao longo do rio Agano, que teve como causa reconhecida a intoxicação pelo metilmercúrio, por causa do consumo de peixe. Em ambos os eventos, os agentes poluidores eram indústrias que despejavam resíduos mercuriais nas águas da baía de Minamata e do rio Agano^{11, 15, 17, 19, 20, 25, 26}. Em 1971/72, no Iraque, repetiu-se o episódio de intoxicações por organomercuriais que afetaram o homem, tendo como causa o consumo de sementes de cereais tratados por compostos alquilmercuriais que se destinavam exclusivamente ao plantio²¹.

Na Universidade Estadual de Binghamton, N.Y., em 1970, Bruce McDuffie realizava uma pesquisa sobre dieta de emagrecimento: 42 pessoas, pelo espaço de um ano, deveriam consumir peixe, no caso atum ou peixe espada, pelo menos em 5 dias por semana. Porém, a determinação de mercúrio na urina dessas pessoas demonstrou níveis até 5 vezes maiores que na urina das do grupo testemunha. Procurando a causa, McDuffie verificou que esses peixes, industrializados, apresentavam contaminação mercurial. O fato, denunciado às autoridades, levou o Food and Drug Administration (FDA) à destruição de alguns lotes de peixes enlatados, e quase leva ao pânico e ao caos a população e a indústria^{3, 6, 19}.

Os dados divulgados pelo Comitê FAO/OMS²⁰, reunido em 1972, mostraram que 99% do peixe em todo o mundo contém mercúrio em concentrações menores que 0,5 mg/kg. A tuna, por exemplo, estudada por pesquisadores do FDA, tem níveis que variam entre 0,13 a 0,25 ppm, dependendo do tamanho do peixe. O

incidente de Binghamton perturbou sensivelmente o comércio do peixe espada (espadete), apesar de MILLER *et alii*¹⁸, em 1972, ter demonstrado que os níveis de mercúrio neste peixe não sofreram variações significativas nos últimos 100 anos — estes autores trabalharam com espécimens conservados em museus e com peixes recém-capturados.

Ainda em 1972, no Canadá, cerca de 500 toneladas de peixe de água doce foram destruídas no espaço de 3 a 4 meses; segundo BLIGH¹, os peixes dos lagos St. Clair e Erie, dependendo da espécie, contêm até 2,0 ppm de mercúrio.

NEWBERNE¹⁹, nos Estados Unidos, verificou que uma grande quantidade de peixes, capturados em áreas diferentes do país, contêm acima de 0,5 ppm de mercúrio. CELESTE & SHANE³, pela análise de 900 amostras de 37 espécies diferentes de peixes, procedentes de 28 localidades dos Estados Unidos, verificaram que cerca de 25% das amostras continha níveis de mercúrio acima de 0,5 ppm, limite que foi estabelecido pelo FDA para essa classe de alimentos.

O risco potencial que os compostos mercuriais representam está na dependência da dose ingerida e da forma química consumida. Nos peixes, a maior parte desse elemento se apresenta como metilmercúrio (grupo alquil), apesar de alguns autores discordarem e afirmarem que, nessa espécie animal, esse elemento está na forma inorgânica⁶. Independentemente da forma química, porém, é unânime o reconhecimento da toxicidade do mercúrio e de seus compostos nos alimentos, em especial os de origem aquática, daí a necessidade de se estabelecerem limites de aceitação, para que se exerça controle no meio ambiente e nos alimentos para a salvaguarda da saúde pública. Assim, HUGUNIN & BRADLEY^{6, 7} relataram que o Comitê FAO/OMS, reunido em Roma em 1971, concluiu que o consumo diário de 57 g de peixe que contêm 0,5 mgHg/kg não oferece risco à saúde e que, na Suécia, consomem-se 50 g de peixe por pessoa ao dia; nos Estados Unidos, 18 g e, no Japão, 88 g. O Comitê de Aditivos para Alimentos da FAO/OMS²⁰, na sua 16.^a Reunião, em 1972, avaliou o evento epidêmico de Niigata, e recomendou um limite máximo de 0,3 ppm de mercúrio total no pescado, do qual não mais que 0,2 mg, sob a forma de metilmercúrio²⁰.

WESTÖÖ²⁸, em 1972, na Suécia, relatou que o mercúrio encontrado nos peixes está, na sua maior parte, sob a forma de metilmercúrio. Os limites adotados, porém, se referem ao mercúrio total, do qual se podem obter dados confiáveis e cuja determinação laboratorial é mais simples.

O padrão de tolerância estabelecido pela FAO/OMS²⁰ é de 0,5 ppm de mercúrio total nos peixes, seguido pelo Canadá, Estados Unidos e Brasil. A Itália tolera 0,7 ppm. O Canadá fixou um limite de 0,05 ppm para produtos alimentícios que não o pescado. A Suécia, pelos levantamentos realizados, admitiu

um limite de 1,0 ppm para os peixes, limite esse que considerou ainda seguro pois, se o mesmo fosse mais rígido, mais de 50% do pescado seria retirado do mercado^{6,7}.

As dificuldades existentes para se estabelecerem limites de aceitação/rejeição, para as águas naturais, se baseiam na ausência de levantamentos mais completos. Apesar disso, o Environment Protection Agency (EPA), dos Estados Unidos, sugeriu o limite de 0,0001 ppm de mercúrio como tolerável, pois o pescado capturado nas águas que apresentam níveis maiores é considerado perigoso para a saúde humana⁶.

A literatura registra vários dados sobre a incidência quantitativa do mercúrio, nos diferentes alimentos. Por causa da biotransformação e disseminação sanguínea, é de se esperar níveis significativos de mercúrio em ovos e carne, por exemplo. WESTÖÖ²⁸ foi um dos poucos pesquisadores que relataram dados so-

bre a incidência do metilmercúrio em carnes, ovos, fígado e peixe, conforme demonstra a tabela 1 do presente trabalho. Na tabela 2, encontramos dados sobre a incidência do mercúrio total em alguns produtos alimentícios da Alemanha, Estados Unidos e Japão.

Em São Paulo, 1966, por causa do uso inadequado de pesticidas organomercúriais, estivemos na vigência de evento semelhante ao do Iraque: agricultores, criminosamente orientados, estavam usando a neantina, aplicando esse mercurial diretamente sobre os frutos do tomateiro, no ponto da colheita. As secretarias da Saúde e da Agricultura foram ativadas através do Instituto Adolfo Lutz e Instituto Biológico, e centenas de amostras de tomate foram analisadas. Os lotes contaminados, assim como as plantações de onde provinham, foram destruídos sumariamente. Durante esse período, foi realizado um levantamento sobre níveis de mercúrio em diferentes alimentos, cujos dados estão relacionados na tabela 3.

TABELA 1

Teor de metilmercúrio em alguns alimentos

Alimentos	Mercúrio total µg/g de alimento	Metilmercúrio	
		mg Hg/kg	% sobre Hg total
Carne (boi)	0,074	0,068	92
" (galinha)	0,051	0,037	73
" "	0,023	0,017	74
Fígado (porco)	0,130	0,095	73
" "	0,140	0,095	68
" "	0,096	0,075	78
Ovo, gema	0,010	0,005	50
" "	0,010	0,009	90
Ovo, clara	0,023	0,020	87
" "	0,025	0,019	76
" "	0,012	0,011	92
" "	0,025	0,024	96
" "	0,012	0,011	92
Perca, tecido muscular	0,75	0,70	93
" " "	0,22	0,20	91
" " "	0,30	0,25	83
" " "	0,42	0,38	90
" " "	0,29	0,25	86
" " "	3,25	2,99	92
" " "	3,10	2,81	91
Lúcio, tecido muscular	3,35	3,11	93
" " "	2,67	2,57	96
" " "	0,68	0,60	88
" " "	1,90	1,81	95
" " "	0,56	0,55	98
" " "	0,79	0,72	91
Haddock, tecido muscular	0,052	0,043	83
" " "	0,033	0,025	76
Bacalhau, tecido muscular	0,036	0,028	78
" " "	0,026	0,022	85

Fonte: WESTÖÖ, G.²⁸.

TABELA 2

Concentração de mercúrio em alimentos (ppm)

Alimentos	Alemanha 1934-38	Estados Unidos 1940	Estados Unidos 1964	Japão 1964
Cereais	0,02 — 0,036	0,002 — 0,006	0,002 — 0,025	0,012 — 0,048
Produtos lácteos				
Leite	0,0006 — 0,004	0,003 — 0,007	0,008	0,003 — 0,007
Manteiga	0,07 — 0,28	—	0,14	—
Queijo	0,009 — 0,01	—	0,08	—
Ovos				
Ovo total	0,002	—	—	—
Clara	—	—	0,01	0,08 — 0,125
Gema	—	—	0,062	0,33 — 0,67
Peixes	0,02 — 0,18	0,0016 — 0,014	0 — 0,06	0,035 — 0,54
Frutas	0,005 — 0,035	—	0,004 — 0,03	0,018
Carnes	0,001 — 0,067	0,0008 — 0,044	0,001 — 0,15	0,31 — 0,36
Vegetais	0,002 — 0,044	0,005 — 0,025	0 — 0,02	0,03 — 0,06

Fonte: HUGUNIN, A. J. & BRADLEY JR., R.L.⁷

TABELA 3

Mercúrio em alimentos. Levantamento efetuado em São Paulo, SP, de 1966 a 1967

Alimentos	N.º de amostras analisadas		
	Teor abaixo de 0,05 ppm	Teor acima de 0,05 ppm	Total
Produtos industrializados de tomate	49	49	98
Abobrinha	1	0	1
Alpiste	0	2	2
Batata	23	14	37
Beringela	48	12	60
Cenoura	1	0	1
Chuchu	1	0	1
Cogumelo	5	12	17
Jiló	0	1	1
Pepino	3	2	5
Pimentão	65	12	77
Tomate	495	85	580
Vagem	1	3	4
Total	692	192	884

TABELA 4

Mercúrio em alimentos. Produtos analisados em São Paulo, SP, de 1968 a 1974

Produtos alimentícios	N.º de amostras analisadas														Total
	1968		1969		1970		1971		1972		1973		1974		
	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	
Prod. industrializados de tomate	73	6	24	—	118	—	12	—	4	2	2	—	36	—	277
Abobrinha	—	—	—	—	—	—	4	—	—	—	—	—	—	—	4
Água	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1
Alface	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	3
Amendoim	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	2
Batata	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
Beringela	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	1
Cenoura	—	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	5
Chuchu	—	—	—	—	—	—	4	—	—	—	—	—	—	—	4
Cogumelo	3	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12
Couve-flor	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	2
Escarola	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	2
Figo	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	1
Jiló	—	—	—	—	—	—	4	—	—	—	—	—	—	—	4
Laranja	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	1
Peixes	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	52	—	6	—	58
Pepino	—	—	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	5
Pimentão	—	1	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	6
Repolho	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	2
Tomate	2	—	—	—	8	—	1	—	—	—	—	—	—	—	11
Trigo	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1
Total	78	16	25	—	126	—	52	—	6	2	54	—	44	1	403

A = teor de mercúrio abaixo de 0,05 ppm.

C = teor de mercúrio igual ou maior que 0,05 ppm.

Em 1974, amostras de peixes provenientes do Estado do Rio Grande do Sul, se mostraram contaminadas pelo mercúrio, o que levou à pesquisa dos níveis desse elemento em peixes de água doce e salgada, realizada em São Paulo²³.

No início de 1975, a imprensa baiana informou que o litoral daquele Estado estava perigosamente poluído pelo mercúrio, porém o fato careceu de confirmação oficial. Em julho do mesmo ano, divulgação semelhante apareceu na imprensa de São Paulo, denunciando a existência de poluição mercurial nas águas da baixada santista. Tal notícia causou-nos estranheza, por causa dos dados por nós obtidos na análise de peixes provenientes dessa região²³, pelos quais concluímos que o problema de contaminação mercurial não existia. Mas tornou-se necessária uma nova verificação; por isso, foram coletadas e analisadas 40 amostras das águas da baixada santista, tanto da superfície como de profundidade que variaram de 20 cm a 1 m, sendo 8 amostras de água doce (ao longo do rio Cubatão) e 32 de água do mar.

MATERIAL E MÉTODO

Material

Foram recolhidas 40 amostras de água, sendo 8 de água doce e 32 de água do mar. A amostragem incluiu águas superficiais retiradas desde um ponto localizado no rio Cubatão, na altura da ponte da via Anchieta, até um ponto localizado nas proximidades da ponte pênsil, em São Vicente. A coleta foi efetuada num período de seca, entre 16 de julho e 25 de agosto de 1975. Na figura 1 estão localizados os pontos de onde as amostras foram retiradas.

Método

Reagentes

Solução de permanganato de potássio a 5%, p/v
Ácido nítrico 5,6 N
Ácido sulfúrico 18 N

Solução de cloridrato de hidroxilamina a 1,5%, p/v

Solução de cloreto de estanho II a 10%, p/v

Nota: todos os reagentes e a água devem estar isentos de mercúrio.

Equipamento

Espectrofotômetro de absorção atômica *
Frascos tipo B.O.D.
Sistema para determinação de mercúrio (fig. 2)

Técnica

1. *Preparo dos padrões e do branco* — Prepare uma solução padrão contendo 1000 µg de mercúrio por litro (solução estoque). A partir dessa solução prepare uma solução padrão de trabalho que contenha 1 µg de mercúrio por ml. Em 3 frascos tipo B.O.D., numerados de 1 a 3, coloque 2 gotas da solução de permanganato de potássio. No frasco 1 adicione 100 ml de água (é o branco) e nos frascos 2 e 3 adicione respectivamente 0,5 ml e 1,0 ml (0,5 µg e 1,0 µ) da solução padrão de mercúrio de trabalho, e 100 ml de água. Agite. Em cada um dos 3 frascos adicione 5 ml de ácido nítrico 5,6 N e agite. Espere cerca de 5 segundos. Adicione 5 ml de ácido sulfúrico 18 N e agite. Espere 45 segundos. Adicione 5 ml da solução de hidroxilamina. Agite. A solução deverá ficar incolor em cerca de 15 segundos. Caso isso não aconteça, adicione mais hidroxilamina até que a solução se torne incolor. Acrescente então 5 ml da solução de cloreto de estanho II e conecte os frascos imediatamente um a um ao sistema para determinação de mercúrio. Faça a leitura no espectrofotômetro. Trace a curva de calibração.

2. *Tratamento da amostra* — Transfira 100 ml da amostra para um frasco tipo B.O.D., adicione 2 gotas da solução de permanganato de potássio (se a solução não permanecer levemente rosada, adicione mais permanganato) e continue como no padrão a partir de ... "Adicione 5 ml da solução de hidroxilamina ... até ... leitura no espectrofotômetro". Calcule a quantidade de mercúrio total baseado na curva de calibração.

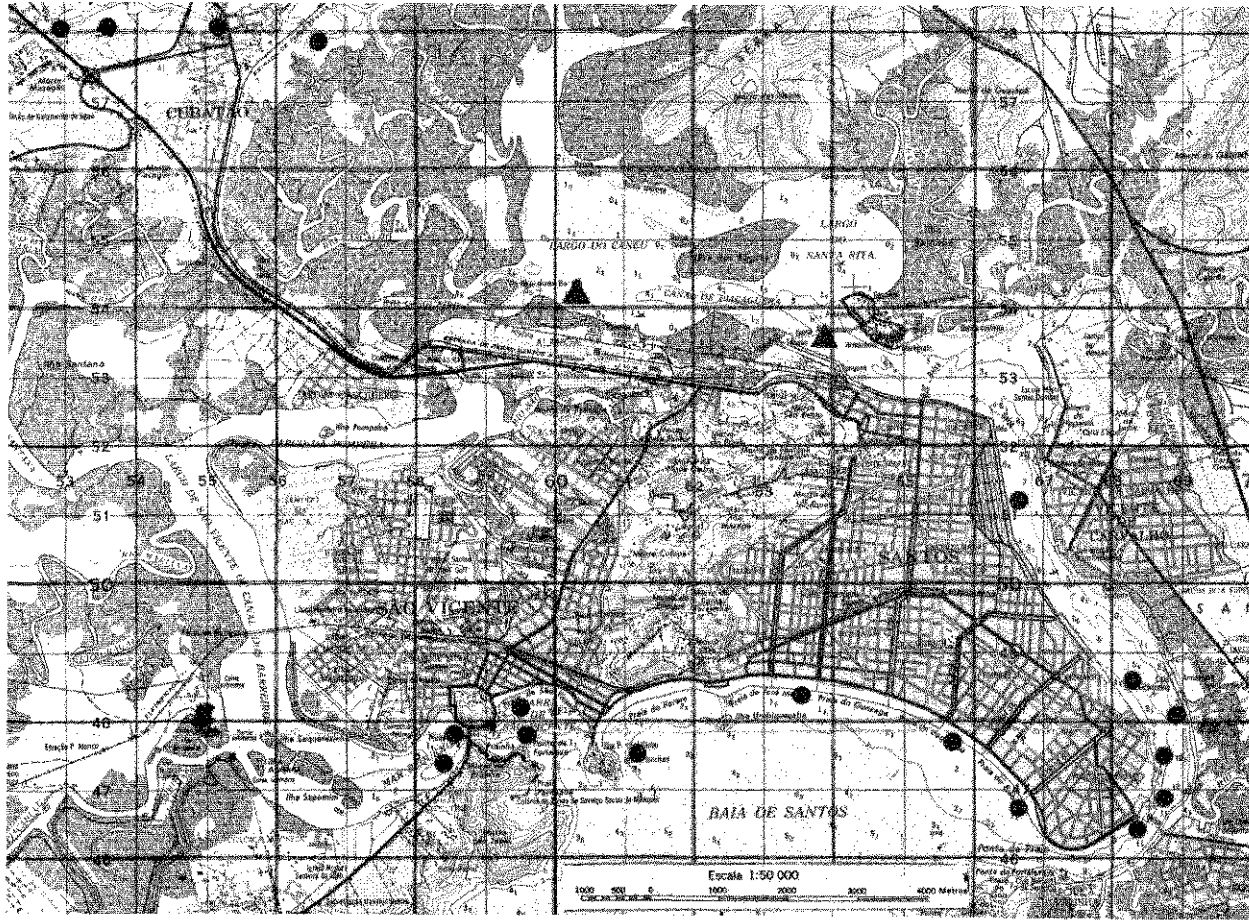
RESULTADOS

A análise de 40 amostras coletadas revelou que todas continham mercúrio porém, em 38 delas, o nível encontrado era inferior a 0,0001 ppm e, nas 2 outras, os níveis foram de 0,0015 a 0,001 ppm. As amostras coletadas na profundidade revelaram os mesmos níveis (abaixo de 0,0001 ppm) que as da superfície, com exceção das daqueles dois pontos onde só amostras da superfície se apresentaram com teor mais elevado de mercúrio.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

As 2 amostras que apresentaram níveis mais altos de mercúrio que as demais 38 foram coletadas na região correspondente à da descarga do esgoto de Cubatão, despejado no rio do mesmo nome (0,0015 ppm) e 500 metros abaixo, na altura da estação de tratamento de água que abastece a cidade de Cubatão (0,001 ppm).

* Perkin-Elmer, 460.



▲ Águas contendo teor de mercúrio acima do limite tolerado. ● Águas contendo teor de mercúrio abaixo do limite tolerado.

Fig. 1 — Mapa cartográfico da baixada santista, indicando os pontos de coleta das amostras. Adaptado e reduzido. (Fonte: INSTITUTO GEOGRÁFICO E GEOLÓGICO DE SÃO PAULO — Região Sul do Brasil: Santos, Estado de São Paulo. São Paulo, 1972.)

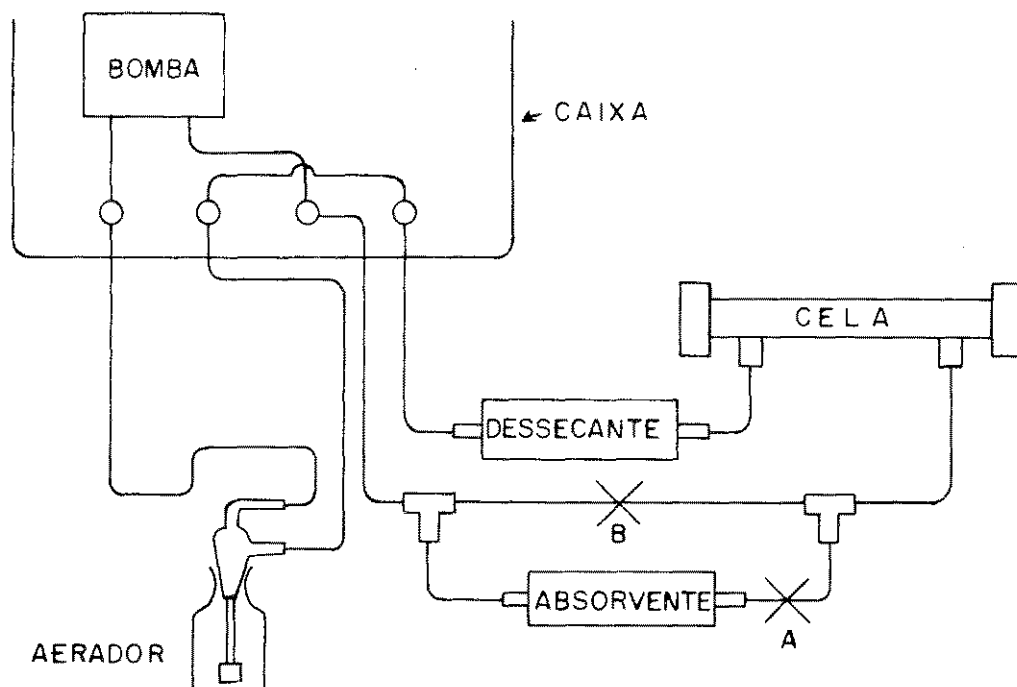


Fig. 2 — Sistema para determinação de mercúrio em alimentos.

(Fonte: PERKIN-ELMER CORPORATION. Instrument Division — *Instructions mercury analysis system*. Norwalk, 1971. p. 24).

Pelos resultados obtidos, consideramos que a poluição pelo mercúrio ainda é inexistente nas águas litorâneas da baixada santista, porém o encontro de dois pontos em níveis acima do recomendado pela EPA deve ser avaliado criteriosamente. A análise sócio-geográfica da área revela que, em linhas gerais, não há horticulturas sedimentadas, com exceção de plantações de banana, e não há informação do uso de pesticidas organomercuriais nestas plantações; porém, a descarga de esgoto diretamente no rio que atravessa a cidade é indício de riscos de poluição de ordem química e/ou microbiológica, além de revelar o estado higiênico-sanitário da região. O problema da po-

lução pelo mercúrio e seus compostos, assim como o das demais poluições, deve ser analisado criteriosamente e a vigilância deve ser constantemente mantida. É necessário o estabelecimento de normas que permitam a preservação do ecossistema, assim como é fundamental a orientação e correção de falhas, seja de descarga de indústrias, seja do uso de pesticidas.

Concluimos, salientando que se deve manter vigilância severa nas águas do rio Cubatão, assim como detectar as fontes poluidoras responsáveis pelos dados encontrados, a fim de orientá-las e preservar as águas do rio.

PREGNOLATTO, W.; TOLEDO, M. & SANTESSO, N. — Mercury content of waters from Baixada Santista, São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):5-15, 1979.

SUMMARY: The first evidence of mercury pollution in Brazil was obtained in 1966 when farmers, specially tomato growers, began to use mercurial pesticides. In 1974, fish samples originating from Rio Grande do Sul were found to contain mercury. A search for mercury in fish samples from São Paulo seashore was unsuccessful at that time. In 1975, a dangerous level of mercury in sea water from Bahia seashore, and Santos seashore, São Paulo, was claimed by periodicals. In the same year, 40 samples of water from Santos seashore were examined and only 2 showed levels of 0.001 and 0.0015 ppm of mercury. The remaining 38 samples showed levels below 0.001 pp.

DESCRIPTORS: mercury in water, determination; water, mercury pollution.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BLIGH, E. G. — Mercury in Canadian fish. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, 5(1): A6-A14, 1972.
2. BURTON, J. D. & LEATHERLAND, T. M. — Mercury in a coastal marine environment. *Nature*, London, 231:440-2, 1971.
3. CELESTE, A. C. & SHANE, C. G. — Mercury in fish. *FDA papers*, 4(9):27-30, 1970.
4. GOLDWATER, L. J. — Mercury in the environment. *Sci. amer.*, 224(5):15-21, 1971.
5. HAMMOND, A. L. — Mercury in the environment: natural and human factors. *Science*, N. Y., 171:788-9, 1971.
6. HUGUNIN, A. G. & BRADLEY JR., R. L. — Exposure of man to mercury. A review. I. Environmental contamination and biochemical relationships. *J. Milk Food Technol.*, 38(5):285-300, 1975.
7. Ibid. II. Contamination of food and analytical methods. *J. Milk Food Technol.*, 38(6):354-68, 1975.
8. JENSEN, S. & JERNELOV, A. — Biological methylation of mercury in aquatic organisms. *Nature*, London, 223: 753-4, 1969.
9. JOENSUU, O. I. — Fossil fuels as a source of mercury pollution. *Science*, N. Y., 172: 1027-8, 1971.
10. JOHNELS, A. G. & WESTMARK, T. — Mercury contamination of the environment in Sweden. In: MILLER, M. W. & BERG, G. G., ed. — *Chemical fallout. Current research on persistent pesticides*. Springfield, Ill., Charles C. Thomas, 1969. p. 221-41.
11. KITAMURA, S. — Determination of mercury content in bodies of inhabitants, cats, fishes, and shells in Minamata District and in the mud of Minamata Bay. In: KUTSUNA, M., ed. — *Minamata disease. Study group of Minamata disease*. Japan, Komamoto University, 1968. p. 257-66.
12. KLEIN, D. H. — Some estimates of natural levels of mercury in the environment. In: HARTUNG, R. & DINMAN, B. D., ed. — *Environmental mercury contamination*. Ann Arbor, Mich., Ann Arbor Science Pub., 1972. p. 25-9.
13. KLEIN, D. H. & GOLDBERG, E. D. — Mercury in the marine environment. *Environ. Sci. Technol.*, 4: 765-8, 1970.
14. KONRAD, J. G. — Mercury contents of bottom sediments from Wisconsin rivers and lakes. In: HARTUNG, R. & DINMAN, B. D., ed. — *Environmental mercury contamination*. Ann Arbor, Mich., Ann Arbor Science Pub., 1972. p. 52-8.
15. KUTSUNA, M. — Historical perspective of the study on Minamata disease. In: KUTSUNA, M., ed. — *Minamata disease. Study group of Minamata Disease*. Japan, Kumamoto University, 1968. p. 1-4.
16. LEATHERLAND, T. M.; BURTON, J. D.; McCARTNEY, M. J. & CULKIN, F. — Mercury in North Eastern Atlantic Ocean water. *Nature*, London, 232: 112, 1971.
17. McALPINE, D. & ARAKI, S. apud HUGUNIN, A. G. & BRADLEY JR., R. L. 6.
18. MILLER, G. E.; GRANT, P. M.; KISHORE, R.; STEINKRUGER, F. J.; ROWLAND, F. S. & GUINN, V. P. — Mercury concentrations in museum specimens of tuna and swordfish. *Science*, N. Y., 175: 1121-2, 1972.
19. NEWBERNE, P. M. — Mercury in fish: a literature review. *CRC crit. Rev. Food Technol.*, 4: 311-35, 1974.
20. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE — Joint FAO/OMS Expert Committee on Food Additives, Geneva, 1972. *Evaluation of mercury, lead, cadmium and the food additives amaranth, diethylpyrocyanate, and octylgallate*. Geneva, WHO, 1972. (WHO food additives series, No. 4)

21. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE — *Les dérivés mercuriels et leurs produits de remplacement dans le traitement des semences. Rapport d'une réunion conjointe FAO/OMS. Genève, 1974. (Série de rapports techniques n.º 555)*
22. PEAKALL, D. B. & LOVETT, R. J. — Mercury: its occurrence and effects in the ecosystem. *Bioscience*, 22: 20-5, 1972.
23. PREGNOLATTO, W.; GARRIDO, N. S. & TOLEDO, M. — Pesquisa e determinação de mercúrio em peixes de água salgada e doce do Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 95-100, 1974.
24. SCHULLER, P. L. & EGAN, H. — *Cadmium lead mercury and methylmercury compounds: a review of methods of trace analysis and sampling with special reference to food.* Rome, FAO, 1976. 97 p.
25. STUDIES on the health effects of alkylmercury in Japan. Japan, Environment Agency, 1975. 215 p.
26. TAKIZAWA, Y. — Studies on the Niigata episode of Minamata disease outbreak; investigation of causative agents of organic mercury poisoning in the district along the river Agano. *Acta med. biol.*, 17(4): 293-7, 1970 apud *Chem. Abstr.*, 74: 109862m, 1971.
27. TURNEY, W. G. — The mercury pollution in Michigan. In: Hartung, R. & DINMAN, B. D., ed. — *Environmental mercury contamination.* Ann Arbor, Mich., Ann Arbor Science Pub., 1972. p. 29-31.
28. WESTÖÖ, G. — Determination of methylmercury compounds in foodstuffs: II. Determination of methylmercury in fish, egg, meat, and liver. *Acta Chem. scand.*, 21: 1790-800, 1967.
29. WOOD, J. M.; KENNEDY, F. S. & ROSEN, C. G. — Synthesis of methylmercury compounds by extracts of a methanogenic bacterium. *Nature*, London, 220: 173-4, 1968.

Recebido para publicação em 5 de junho de 1978.

LEPTOSPIROSES. ESTUDO SOROLÓGICO ENTRE HABITANTES DE ILHAS DO LITORAL SUL DO ESTADO DE SÃO PAULO *

Roberto FOCACCIA **
José Roberto C. BAZONE **
Saburo HYAKUTAKE ***
Celso Carmo MAZZA **
Chaie FELDMAN **
Ricardo VERONESI ****

RIAL6/470

FOCACCIA, R.; BAZONE, J.R.C.; HYAKUTAKE, S.; MAZZA, C.C.; FELDMAN, C. & VERONESI, R. — Leptospiroses. Estudo sorológico entre habitantes de ilhas do litoral sul do Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):17-23, 1979.

RESUMO: Foi realizado pela primeira vez, em ilhas do litoral sul do Estado de São Paulo, levantamento sorológico para leptospirose em comunidades isoladas, de precários meios de comunicação, baixo nível sócio-econômico e de condições sanitárias. Foi realizada a prova de soroaglutinação para leptospirose em uma amostragem estimativa de cerca de 35% da população, tendo sido enviados para exame soros embebidos em papel de filtro. Encontrou-se uma reagência da ordem de 7,36%. Houve predomínio do sorotipo *panama*. Não houve predominância entre sexos ou grupos etários.

DESCRITORES: leptospirose humana em São Paulo (litoral), Brasil; leptospirose humana, sorotipos.

INTRODUÇÃO

O objetivo deste estudo visou a determinação do percentual de portadores de aglutininas séricas antileptospiras e dos sorotipos responsáveis entre habitantes de ilhas do litoral sul do Estado de São Paulo, os quais se encontram em estado de semi-isolamento sociocultural e geográfico. Não há relato anterior sugestivo de formas graves de leptospiroses na região.

Estas populações apresentam características de vida comunitária homogêneas: ausência de saneamento básico, habitações precárias, baixa densidade populacional, erros alimentares básicos, convivência doméstica e peri-domiliar com vários animais reconhecidos como

importantes reservatórios e vetores de doenças. Dentre estes animais, os ratos são abundantes.

O interesse particular desta pesquisa residiu no levantamento da prevalência da infecção leptospirótica humana subclínica, em áreas com características acima mencionadas.

Os inquéritos sorológicos sobre leptospiroses humanas, em nosso País, são relativamente escassos, a maioria relacionada com a incidência da infecção em áreas metropolitanas, entre trabalhadores em esgotos ou em atividades agrícolas, principalmente em arrozais e canaviais.

A tabela 1 resume os resultados de alguns desses inquéritos:

* Realizado no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP. Apresentado no 12.º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical e no 1.º Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia. Belém, 1976.

** Do Hospital Emílio Ribas e do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, São Paulo, SP.

*** Do Instituto Adolfo Lutz e da FMUSP.

**** Da Faculdade de Medicina da USP.

TABELA 1

Sinopse de inquérito sorológico sobre leptospiroses humanas no Brasil

(Continua)

Autor	Ano	Local da pesquisa	Grupamento	Exames n.º amostras	Positi- vidade %	Sorotipos prevalentes
CASTRO, A. F. P. <i>et al.</i> ¹	1966	São Paulo	Magarefes	372	3,2	<i>icterohaemorrhagiae</i> e <i>canicola</i>
CASTRO, R. M. <i>et al.</i> ²	1963	Ceará	População geral	376	1,5	<i>icterohaemorrhagiae</i>
COSTA, C. A. ³	1966	Rio Jari (Pará)	População geral	56	zero	—
COSTA, E. A. <i>et al.</i> ⁴	1966	Porto Alegre	Trabalhadores em esgotos	104	19,4	<i>icterohaemorrhagiae</i> <i>icterohaemorrhagiae</i> <i>icterohaemorrhagiae</i>
			em águas	70	7,1	
			em geral	76	7,8	
CORRÊA, M. O. A. (Não publicado)	1965	Parque Nacional do Xingu	Índios	71	zero	—
CORRÊA, M. O. A. ⁵	1975	Amazônia	População geral	467	27,5 25,0	<i>grippto-typhosa</i> <i>panama</i>
CORRÊA, M. O. A. (Não publicado)	1965	Rondônia	Índios urubus	46	zero	—
CORRÊA, M. O. A. <i>et al.</i> ⁶	1966	São Paulo	Coletores de lixo	403	2,9	<i>icterohaemorrhagiae</i>
CORRÊA, M. O. A. <i>et al.</i> ⁷	1954	Vale do Paraíba	Rizicultores	208	1,4	<i>canicola</i> e <i>australis</i>
CRUZ, J. <i>et al.</i> ⁸	1969	São Paulo	Trabalhadores em esgotos	100	14,0	<i>icterohaemorrhagiae</i>
EDELWEISS, E. L. <i>et al.</i> ¹⁰	1962	Rio Grande do Sul	Rizicultores	101	1,9	<i>icterohaemorrhagiae</i>
			Trabalhadores em esgotos	86	2,3	<i>icterohaemorrhagiae</i>
			Mineiros de carvão	60	1,6	<i>icterohaemorrhagiae</i>

FOGACCIA, R.; BAZONE, J. R. C.; HYAKUTAKE, S.; MAZZA, C. C.; FELDMAN, C. & VERONESI, R. — Leptospirases. Estudo sorológico entre habitantes de Ilhas do Itororai sul do Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39 (1): 17-23, 1979.

(Conclusão)

Autor	Ano	Local da pesquisa	Grupamento	Exames n.º amostras	Positi- vidade %	Sorotipos prevalentes
HYAKUTAKE, S. <i>et al.</i> ¹¹	1965/67	São Paulo	Cortadores de cana	436	0,9	<i>icterohaemorrhagiae</i> <i>djasiman</i> , <i>javanica</i> <i>pyrogenes</i>
HYAKUTAKE, S. <i>et al.</i> ¹²	1972	Goiânia	Gestantes	103	8,7	<i>panama</i>
			Magarefes	139	7,9	<i>panama</i>
			Outras moléstias	200	10,0	<i>panama</i>
			Universitários	61	3,2	<i>panama</i>
GOMES, M. C. O. <i>et al.</i> ¹³	1968	Sorocaba (São Paulo)	Trabalhadores em esgoto, lixo e maga- refes	342	1,1	<i>icterohaemorrhagiae</i>
MAGALDI, C. ¹⁴	1962	São Paulo	Trabalhadores em esgotos	200	28,5	<i>icterohaemorrhagiae</i>
MAGALHÃES, M. <i>et al.</i> ¹⁵	1970	Recife	População geral	720	11,7	<i>icterohaemorrhagiae</i>
NOHMI, N. ¹⁶	1970	Belo Horizonte	Pacientes do I. P. S. E. M. G.	100	1,0	<i>panama</i>
NOHMI, N. ¹⁷	1964	Belo Horizonte	Trabalhadores em esgotos	203	0,4	<i>icterohaemorrhagiae</i>
			Magarefes	74	2,7	<i>canicola</i> (entre todos)
			Rizicultores	48	2,0	—
ROMANHOLI, J. A. ¹⁸	1963	Curitiba	Trabalhadores em esgotos	94	1,0	<i>icterohaemorrhagiae</i>
			em lixo	92	5,7	<i>icterohaemorrhagiae</i>
			em geral	30	zero	<i>icterohaemorrhagiae</i>
SANTA ROSA, C. A. <i>et al.</i> ¹⁹	1969	São Paulo	Diversas pro- fissões	1217	5,4	<i>icterohaemorrhagiae</i> e <i>canicola</i>
SANTA ROSA, C. A. <i>et al.</i> ²⁰	1969	São Paulo	Banco de San- gue	364	1,0	<i>icterohaemorrhagiae</i>

FOCACCIA, R.; BAZONE, J. R. C.; HYAKUTAKE, S.; MAZZA, C. C.; FELDMAN, C. & VERONESI, R. — Leptospiroses. Estudo sorológico entre habitantes de ilhas do litoral sul do Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39 (1): 17-23, 1979.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de sangue foram obtidas de 163 pessoas, habitantes autóctones de várias pequenas ilhas situadas junto ao litoral sul do Estado de São Paulo, próximo à divisa com o Estado do Paraná, incluindo, também, algumas comunidades restritas a áreas de muito difícil acesso na Ilha Comprida e na Ilha do Cardoso (Município de Cananéia).

A amostragem colhida abrangeu cerca de 35% da população, que totaliza aproximadamente 500 pessoas.

As idades dos indivíduos pesquisados variaram entre 5 e 71 anos, distribuídos pelos dois sexos e ninguém referiu doença icterícia anterior.

O sangue foi recolhido por punção venosa, o soro correspondente foi obtido por sedimentação em tubos estéreis e separados através

de pipetas de Pasteur. O transporte dos mesmos foi feito em papel de filtro no qual se distribuíram duas porções de 0,1 ml cada, e uma de 0,2 ml, deixando-se secar à temperatura ambiente. O material foi enviado à Seção de Parasitoses Sistemáticas do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo.

A técnica de soroaglutinação empregada seguiu os padrões recomendados pela Organização Mundial de Saúde, sendo utilizados 23 sorotipos como antígenos, em bateria, referentes aos 17 sorogrupos mais comumente encontrados no Brasil (tab. 2), incluindo o sorotipo *Semarang patoc*.

Foram considerados como reagentes os soros que aglutinaram com título igual ou superior a 1:100.

Fez-se a análise estatística pelo método de Qui-Quadrado (X^2), para determinação de predomínio entre sexos e grupos etários.

TABELA 2

Lista de bateria de antígenos

Sorogrupo	Sorotipo	Cepa de referência
1. <i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i>	RGA
	<i>copenhagani</i>	M 20
2. <i>Canicola</i>	<i>canicola</i>	Hond Utrecht IV
3. <i>Pomona</i>	<i>pomona</i>	Pomona
4. <i>Grippotyphosa</i>	<i>grippotyphosa</i>	Moskva V
5. <i>Tarassovi</i>	<i>tarassovi</i>	Mitis Johnson
6. <i>Hebdomadis</i>	<i>hebdomadis</i>	Hebdomadis
	<i>wolffi</i>	3705
	<i>sejroe</i>	M 84
	<i>saxkoebing</i>	Mus 24
7. <i>Australis</i>	<i>australis</i>	Ballico
8. <i>Bataviae</i>	<i>bataviae</i>	Swart
9. <i>Ballum</i>	<i>castellonis</i>	Castellón 3
10. <i>Panama</i>	<i>panama</i>	CZ 214 K
11. <i>Pyrogenes</i>	<i>pyrogenes</i>	Sallinem
12. <i>Javanica</i>	<i>javanica</i>	Veldrat Batavia 46
13. <i>Autumnalis</i>	<i>autumnalis</i>	Akiyami A
	<i>djasiman</i>	Djasiman
	<i>sentot</i>	Sentot
14. <i>Cynopteri</i>	<i>cynopteri</i>	3522 C
15. <i>Celledoni</i>	<i>celledoni</i>	Celledoni
16. <i>Andamana</i>	<i>andamana</i>	CH 11
17. <i>Semarang</i>	<i>patoc</i>	Patoc I

RESULTADOS

Entre 163 amostras examinadas, foram encontrados 12 soros reagentes (7,36%), dos quais 7 pertencentes a pacientes do sexo masculino (7,52%) e 5 a pacientes do sexo feminino (8,92%).

O estudo estatístico demonstrou que não houve significância quando comparados os soros reagentes entre os dois sexos ($X^2 = 0,28$), da mesma forma que não houve diferença matemática entre positividade de crianças (0-15 anos) e adultos, ainda que tenha havido predomínio em números absolutos entre as crianças ($X^2 = 4,28$).

TABELA 3

Distribuição dos soros reagentes, por grupos etários e por sexo

Grupo etário Anos	Homens		Mulheres	
	Amostras	Reagentes	Amostras	Reagentes
0 — 10	11	3	3	0
11 — 20	34	1	24	3
21 — 30	18	1	14	1
31 — 40	106	0	16	1
41 — 50	12	0	7	0
51 — 60	2	2	2	0
61 — 75	6	0	4	0

Os sorotipos encontrados foram:

- panama* — 5 vezes
- panama* e *australis* — 1 vez
- panama*, *grippotyphosa* e *autumnalis* — 1 vez
- grippotyphosa* e *ballum* — 1 vez
- icterohaemorrhagiae* — 2 vezes
- icterohaemorrhagiae* e *ballum* — 2 vezes

Os títulos mais altos encontrados corresponderam à amostra n.º 83, que aglutinou aos títulos de 1:800 para o sorotipo *icterohaemorrhagiae* e de 1:1600 para o sorotipo *ballum*.

COMENTÁRIOS

A positividade das reações, de cerca de 7,36% na fração da comunidade estudada, parece refletir, do ponto de vista epidemiológico, os vários fatores de risco de contágio por leptospiroses, tais como: promiscuidade, am-

biente quente úmido caracterizado por temperatura média anual em torno de 22°C e por índices pluviométricos anuais entre 2.000 e 3.000 mm, e presença abundante de ratos.

Em dois indivíduos houve soropositividade com o sorotipo *icterohaemorrhagiae*, isoladamente e, noutro caso em coaglutinação com o sorotipo *ballum*, em títulos altos, constituindo-se em 37,3% soros positivos, indicando a alta frequência deste sorotipo em nosso meio, o qual, apesar de ser considerado "mais virulento", desenvolveu nessa área apenas doença subclínica.

Por outro lado, o *panama* ocorreu, isoladamente ou em coaglutinação, por sete vezes (58,3%), predominando entre todos os sorotipos encontrados. O achado concomitante de aglutininas, para diferentes sorotipos de leptospiroses, parece-nos decorrer de resposta imunológica cruzada.

Pudemos verificar que não houve diferença significativa de soropositividade entre os dois sexos e, do mesmo modo, entre segmentos etários. O predomínio em números absolutos entre crianças de 0-15 anos não foi, entretanto, suficiente para alcançar significância estatística.

FOCACCIA, R.; BAZONE, J.R.C.; HYAKUTAKE, S.; MAZZA, C.C.; FELDMAN, C. & VERONESI, R. — Leptospiroses. Serological survey among the inhabitants of islands along the southern sea shore of the state of São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):17-23, 1979.

SUMMARY: The first serological survey of leptospirosis was carried out in a few islands close to the southern Atlantic shore of the state of São Paulo. Communications with the mainland were scanty and the communities surveyed lived under very poor economic and sanitary conditions. Thirty five per cent of the estimated population was surveyed for leptospirosis soroagglutination tests. Twenty three standard serotype antigens were included in the tests which yielded 7.4% of positive results. Serotype *panama* was found to be the predominant strain. There was no sex or age predominance. Comparison with leptospirosis surveys made in other areas of Brazil showed the importance of the problem in those islands.

DESCRIPTORS: leptospirosis (human) in São Paulo (sea shore), Brazil; leptospirosis (human), serotypes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CASTRO, A.F.P.; SANTA ROSA, C.A.; ALMEIDA, W.F. & TROISE, C. — Pesquisa de aglutininas anti-leptospira entre magarefes em alguns municípios do Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 8:287-90, 1966.
2. CASTRO, R.M. & CORREA, M.O.A. — Inquérito sorológico sobre leptospiroses realizado no Vale do Cariri, Estado do Ceará. *Rev. Med. São Paulo*, 47:190-2, 1963.
3. COSTA, C.A.; REZENDE, M. & LINS, Z. — Leptospiroses no Estado do Pará e Território Federal do Amapá. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 29/30:1-4, 1969/70.
4. COSTA, E.A. — Considerações epidemiológicas sobre leptospiroses. (A propósito de inquérito sorológico em trabalhadores do Departamento Municipal de Água e Esgotos de Porto Alegre). *Gaz. méd. Bahia*, 70(2):75-104, 1970.
5. CORRÊA, M.O.A. — Human leptospirosis in Brazil. *Int. J. Zoon*, 2:1-9, 1975.
6. CORRÊA, M.O.A.; HYKUTAKE, S.; OLIVEIRA, L.; MARTINS, J.C.E. & AMATO NETO, V. — Inquérito sorológico para leptospirose entre trabalhadores da limpeza pública na cidade de São Paulo. *Rev. paul. Med.* 70:102, 1967.
7. CORRÊA, M.O.A.; AMATO NETO, V.; VERONESI, R. & BRANDÃO, C.M. — Inquérito sorológico para leptospiroses entre lavradores de arrozais do Vale do Paraíba. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 14(1):33-7, 1954.
8. CRUZ, J.; TREVISAN, S.; MUNIZ, J.C.; LITIERI, P. & CÂMARA, R.U.F. — Leptospiroses em trabalhadores da rede de esgotos da cidade de S. Paulo. *Rev. D.A.E.*, 29:77-80, 1969.
9. EDELWEISS, E.L. — Leptospiroses no Rio Grande do Sul. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 29/30:5-11, 1969/70.
10. EDELWEISS, E.L. — *Leptospiroses humanas. (Contribuição ao seu estudo)*. Porto Alegre, 1962. 257p. [Tese Livre-Doc. — Faculdade de Medicina de Porto Alegre].
11. HYAKUTAKE, S.; CORRÊA, M.O.A.; NATALE, V.; COUTO, M.C. MAZZARI, R. & PACHECO, A. — Inquérito sorológico para o diagnóstico de leptospiroses entre cortadores de cana-de-açúcar de alguns municípios do Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 25/27:111-4, 1965/67.
12. HYAKUTAKE, S. & BARBOSA, W. — Inquérito sorológico para leptospirose em Goiânia — Goiás (1972) — Contribuição para o estudo epidemiológico das leptospiroses em Goiás. *Rev. Pat. trop.*, 3:347-54, 1974.
13. GOMES, M.C.O.; HYAKUTAKE, S. & CORRÊA, M.O.A. — Investigação sobre a ocorrência de leptospiroses em trabalhadores de diversas profissões no distrito sede do Município de Sorocaba. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 28:19-26, 1968.
14. MAGALDI, C. — *Contribuição à epidemiologia das leptospiroses. Investigação em trabalhadores de rede de esgotos da cidade de São Paulo*. São Paulo, 1962. 114p. [Tese — Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo].

FACCACCIA, R.; BAZONE, J.R.C.; HYAKUTAKE, S.; MAZZA, C.C.; FELDMAN, C. & VERONESI, R. — Leptospirose. Estudo sorológico entre habitantes de ilhas do litoral sul do Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):17-23, 1979.

15. MAGALHÃES, M. & VERAS, A. — Aspectos sorológicos da leptospirose no Recife. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 12:112-4, 1970.
16. NOHMI, N.; HYAKUTAKE, S. & SADAT-SUNE, T. — Inquérito sobre a incidência de toxoplasmose e das leptospiroses entre contribuintes do Instituto de previdência dos Servidores do Estado de Minas Gerais. *Rev. Med. Inst. Previdência Serv. Estado Minas Gerais*, 1:31-9, 1970.
17. NOHMI, N. — Contribuição à epidemiologia das leptospiroses. Investigação em trabalhadores da Rede de Águas e Esgotos, Armazéns, Restaurantes e Feiras Livres da cidade de Belo Horizonte, MG. *Hospital, Rio de Janeiro*, 65(3):617-29, 1964.
18. ROMANHOLI, J.A. — *Leptospirose na Capital paranaense; contribuição à sua epidemiologia*. Curitiba, 1963. [Tese — Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Católica do Paraná].
19. SANTA ROSA, C.A.; COSCINA, A.L.; CASTRO, A.F.P.; SILVA, A.S. & QUEIROZ, J.C. — Pesquisa de aglutininas antileptospirose em soros de trabalhadores de diversas profissões. *Rev. Microbiol.* 1:19-24, 1970.
20. SANTA ROSA, C.A.; KIPNIS, J.; OSELKA, G.W.; TCHERNIACOVSKI, I. & AMATO NETO, V. — Verificações de reações de soroaglutinação para o diagnóstico de leptospirose positiva, entre doadores de sangue de Banco de Sangue de São Paulo. *Rev. Soc. bras. Med. trop.*, 3:31, 1969. [Resumo]

Recebido para publicação em 24 de agosto de 1978.

RESERVATÓRIOS SILVESTRES DO *TRYPANOSOMA* (*SCHIZOTRYPANUM*) *CRUZI* CHAGAS, 1909 *

Mauro Pereira BARRETTO **
Rosa Domingues RIBEIRO **

RIALAG/471

BARRETTO, M. P. & RIBEIRO, R.D. — Reservatórios silvestres do *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* Chagas, 1909. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):25-36, 1979.

RESUMO: Adotando a sistemática de A. Cabrera, 1957-60, para os mamíferos sul-americanos e a de G.S. Miller & R. Kellog, 1955, para os mamíferos norte e centro-americanos, os autores organizam uma lista de animais silvestres até agora encontrados com infecção natural pelo *T. cruzi* nos diferentes países do Continente Americano. Baseados na análise crítica da literatura e em suas próprias observações, discutem a importância dos diversos grupos de reservatórios na epidemiologia da tripanossomíase americana.

DESCRITORES: *Trypanosoma cruzi*; tripanossomíase americana; animais (mamíferos) silvestres; reservatórios de doenças; doença de Chagas.

INTRODUÇÃO

Reconhecido o caráter zoonótico da tripanossomose *** americana, desde o primeiro trabalho de CHAGAS¹, vários pesquisadores, em diversos países da América e em diferentes épocas, particularmente no Brasil, Venezuela, Colômbia e Costa Rica, durante os dois ou três últimos decênios, têm procurado a infecção pelo *T. cruzi* em uma grande variedade de animais silvestres, visando a elucidar o papel que desempenham na epidemiologia da doença. Como consequência dessas investigações, verificou-se a presença de flagelados idênticos ou semelhantes ao parasito humano em uma série grande de mamíferos silvestres.

Quanto aos elementos de identificação desse flagelado, fugiria aos limites da presente exposição uma análise pormenorizada do problema que, aliás, já foi objeto de trabalhos de revisão por DEANE², BARRETTO^{3, 4}. Diremos apenas que identificamos um flagelado como

T. cruzi tomando em consideração os seguintes critérios adotados por BARRETTO³: 1) o aspecto morfológico; 2) os dados biométricos, em particular o comprimento total médio e o índice nuclear médio; 3) a infectividade para animais de laboratório, em particular ratos e camundongos jovens; 4) a presença de amastigotas nos tecidos do hospedeiro vertebrado natural ou experimental; 5) o desenvolvimento de imunidade cruzada nos animais experimentalmente infectados contra amostra virulenta do *T. cruzi* de origem humana; 6) a infectividade para triatomíneos, com desenvolvimento de tripomastigotas metacíclicos no intestino posterior do inseto; 7) a cultivabilidade em meios artificiais difásicos (ágar-sangue) ou monofásicos (Warren & Lit).

Infelizmente, em muitos casos, faltam-nos elementos indispensáveis para ajuizar da exata identificação dos tripanossomos de animais silvestres citados na literatura pertinente. Daí a impossibilidade de organização

* Realizado no Departamento de Ciências Patológicas da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Ribeirão Preto, SP, USP.

** Do Departamento de Ciências Patológicas da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Ribeirão Preto.

*** No texto deste trabalho foi conservado o termo tripanossomose, preferido pelo autor, em lugar de tripanossomíase.

de uma lista completa e correta de reservatórios silvestres e a necessidade de um estudo mais detalhado de tripanossomos que têm sido encontrados em vários hospedeiros.

A despeito dessas reservas, parece que podemos considerar como reservatórios silvestres, pelo menos tentativamente, os mamíferos que adiante relacionaremos*. Nessa relação, que corrige e completa as relações de BARRETTO^{4, 6, 8}, adotamos a nomenclatura e a sistemática de CABRERA¹⁵, para os mamíferos sul-americanos, e de MILLER & KELLOG¹⁴, para os mamíferos norte e centro-americanos.

Esses mamíferos têm os mais variados hábitos e habitáculos. Alguns são cavícolas, como certos morcegos, ou habitam cavidades pré-existentes no solo, como vários roedores. Outros escavam suas tocas, como os tatus, os furões e certos roedores. Uns habitam ocos de árvores como os gambás, ratos arborícolas e diversos morcegos, enquanto outros são tipicamente dendrícolas como os símios. Outros, finalmente, embora silvestres, soem invadir as habitações humanas e suas dependências e aí viver temporariamente, como os gambás e alguns morcegos.

ORDEM MARSUPIALIA

Parece que a primeira verificação da infecção natural dos marsupiais (gambás, gambá-martas, marmosas, cuicas, filandros, etc.) se deve a ROBERTSON²¹ que, em Honduras, encontrou o gambá, *Didelphis marsupialis*, naturalmente parasitado pelo *T. cruzi*. Trabalhos posteriores vieram confirmar a infecção natural desta espécie e suas subespécies, assim como de diversos outros didélfidas em quase todos os países das Américas. Apresentamos a seguir uma lista desses marsupiais.

FAMÍLIA DIDELPHIDAE

- Caluromys derbianus derbianus* (Waterhouse, 1841) — Panamá.
Caluromys derbianus pallidus (Thomas, 1899) — Costa Rica.
Caluromys lanatus ochropus (Wagner, 1842) — Brasil (Minas Gerais).
Caluromys philander philander (Lin. 1758) (= *C. trinitatis* Thomas, 1903) — Guiana Francesa e Venezuela.
Didelphis azarae azarae Temminck, 1825 (= *D. paraguayensis auct.*) — Brasil (Ceará, Minas Gerais, São Paulo e Santa Catarina), Uruguai, Argentina e Bolívia.
Didelphis marsupialis aurita Wied, 1826 — Brasil (São Paulo).

- Didelphis marsupialis etensis* Allen, 1902 — Equador, Colômbia, Panamá, Costa Rica e Belize.
Didelphis marsupialis marsupialis Lin., 1758 (= *D. cancrivora* Gmelin, 1788) — Brasil (Pará), Guiana Francesa e Venezuela.
Didelphis marsupialis mesamericana Oken, 1816 — México e Estados Unidos.
Didelphis marsupialis (?) *tabascensis* Allen, 1902 — Honduras, Guatemala e México.
Didelphis marsupialis virginiana Kerr, 1782 — Estados Unidos.
Lutreolina crassicaudata crassicaudata (Desmarest, 1904) — Brasil (São Paulo).
Lutreolina crassicaudata paranalis Thomas, 1923 — Argentina.
Marmosa agilis agilis (Burmeister, 1854) — Brasil (São Paulo).
Marmosa alstoni alstoni (Allen, 1900) — Costa Rica.
Marmosa cinerea cinerea (Temminck, 1824) — Brasil (Pará).
Marmosa elegans (?) *cinderella* (Thomas, 1902) — Argentina.
Marmosa microtarsus microtarsus (Wagner, 1842) — Brasil (São Paulo).
Marmosa murina (?) *waterhousei* (Tomes, 1860) — Colômbia.
Marmosa pusilla pallidior Thomas, 1898 — Argentina.
Marmosa robinsoni robinsoni Bangs, 1898 (= *M. mitis casta* Thomas, 1911) — Venezuela.
Metachirus nudicaudatus myosurus Temminck, 1835 — Brasil (Rio de Janeiro).
Monodelphis domestica domestica (Wagner, 1842) — Brasil (Ceará).
Philander opossum cuica (Temminck, 1825) — Brasil (São Paulo).
Philander opossum fuscogriseus (Allen, 1900) — Costa Rica e Panamá.
Philander opossum (?) *griseescens* (Allen, 1901) — Colômbia.
Philander opossum opossum (Lin., 1758) — Brasil (Pará).

Como dissemos, não é possível termos certeza de que todos os achados acima mencionados se refiram ao *T. cruzi*, por falta, em diversos casos, de elementos de informação suficientes. Mas, a despeito dessa ressalva, parece que os marsupiais constituem um grupo importante de reservatórios. Os mais estudados têm sido as espécies e subespécies do gênero *Didelphis* nas quais têm sido encon-

* A notação (?) indica a subespécie mais provável.

trados índices de infecção elevados em todas as áreas onde investigações mais cuidadosas têm sido feitas.

Assim, para o *D. azarae azarae*, em localidades do Chaco Santafecino, na Argentina. MAZZA & SCHREIBER⁴² observaram índices de infecção de 25% a 45%. No Estado de São Paulo, Brasil, BARRETTO, SIQUEIRA, CORREA, FERRIOLLI & CARVALHEIRO³⁰ verificaram índice de infecção de 21,4%, entre exemplares capturados em ecótopos naturais e artificiais. Em idêntica situação, SILVA, ANDRADE & LIMA⁵⁴, trabalhando em vários municípios do Estado de São Paulo, obtiveram um índice de positividade de 18,6%. Em São Felipe, Bahia, MILES⁴³ verificou um índice de infecção de 21,54% entre exemplares submetidos ao xenodiagnóstico.

Fato semelhante ocorre com o *D. marsupialis* e suas subespécies. Assim, por exemplo, investigações realizadas no Brasil por RODRIGUES & MELLO⁵², no Estado do Pará, GUIMARÃES & JANSEN⁵⁴ no Rio de Janeiro e BARRETTO, SIQUEIRA, CORREA, FERRIOLLI & CARVALHEIRO³⁰ no Estado de São Paulo, revelaram respectivamente índices de infecção de 91,7%, 35,7% e 19,8%. Altas porcentagens de gambás infectados têm sido encontradas em outros países: 33,3% e 41,8% respectivamente por ALVAREZ² e ESPINOSA⁵⁰, no Equador; 21,4% por FLOCH & ABONNENC⁵³, na Guiana Francesa; 36,6% e 74,28% por PIFANO^{46, 47}, na Venezuela; 24,6% e 20% respectivamente por CLARK & DUNN⁵⁰ e por SOUZA⁵⁵, no Panamá; 67,3% por ZELEDON, SOLANO, SAENS & SWARTZWELDER⁵⁰, na Costa Rica; 17% por MCKEEVER, GORMAN & NORMAN⁵⁷, nos Estados Unidos.

Releva assinar que, além de se apresentarem freqüentemente parasitados e serem muito comuns, os gambás invadem os nichos artificiais (habitações humanas e anexos), tanto nas zonas rurais quanto nas áreas urbanas, servindo de fonte alimentar para triatomíneos sinantrópicos, como mostrou BARRETTO⁶ e, conseqüentemente, de fontes de infecção para o homem. Finalmente, outra boa condição de reservatório reside no fato de os gambás apresentarem parasitemia aparente com longa duração, como assinalaram ALVAREZ² e BARRETTO, SIQUEIRA, CORRÊA, FERRIOLLI & CARVALHEIRO³⁰.

Entre os marsupiais, outros que parecem bons reservatórios são as subespécies de *Lutrolina crassicaudata*. Assim, por exemplo, BARRETTO, SIQUEIRA, FERRIOLLI & CARVALHEIRO³¹, observaram índice de infecção de 20% entre exemplares de *L. crassicaudata crassicaudata* no Estado de São Paulo, Brasil. Embora silvestres, raramente aproximando-se de habitações humanas, o gambá-marta parece importante elo na manutenção da enzootia chagásica nos focos naturais.

Outro marsupial que parece desempenhar papel importante no ciclo silvestre da tripanossomose americana, nas áreas em que ocorre, é o *Caluromys philander philander*,

encontrado com infecção natural por PIFANO⁴⁷, na Venezuela, na proporção de 43,16%.

Por outro lado, na Costa Rica, alguns outros marsupiais parecem ter importância, segundo as verificações de ZELEDON, SOLANO, BURSTIN & SWARTZWELDER⁵⁸, que obtiveram os seguintes índices de infecção natural: *Caluromys derbianus pallidus* — 5,3%, *Marmosa alstoni alstoni* — 9,1% e *Philander opossum fuscogriseus* — 25,5%.

ORDEM EDENTATA

Desde o trabalho pioneiro de CHAGAS¹⁷, cerca de 20 espécies ou subespécies de desdentados (tatus, tamanduás e preguiças) têm sido encontradas com infecção natural e os pesquisadores têm salientado a importância desses mamíferos, principalmente dos tatus, na epidemiologia da tripanossomose americana, contribuindo efetivamente para manter a enzootia nas áreas onde ocorrem. Damos a seguir uma lista dos desdentados naturalmente infectados.

FAMÍLIA MYRMECOPHAGIDAE

Tamandua longicaudata longicaudata Wagner, 1844 — Colômbia.

Tamandua tetradactyla (?) *chiriquensis* Allen, 1904 — Panamá.

Tamandua tetradactyla tetradactyla (Lin., 1758) — Brasil (Pará) — e Venezuela.

FAMÍLIA BRADYPODIDAE

Bradypus infuscatus (?) *ephippiger* Philippi, 1870 — Panamá e Colômbia.

Choloepus hoffmanni Peters, 1858 — Panamá.

FAMÍLIA DASYPODIDAE

Cabassous totouay (Desmarest, 1819) [= *C. lugubris* (Gray, 1873), = *C. uncinatus* auct.] — Argentina.

Cabassous uncinatus (Lin. 1758) (= *C. lugubris* auct.) — Brasil (Minas Gerais), Guiana Francesa e Venezuela.

Chaetophractus vellerosus pannosus (Thomas, 1902) — Argentina.

Chaetophractus vellerosus vellerosus (Gray, 1865) (= *Dasyppus hybridus* auct.) — Argentina.

Chaetophractus villosus (Desmarest, 1804) — Argentina.

Dasyppus kapleri kapleri Kraus, 1862 (= *D. pentadactylus* Peters, 1865) — Venezuela e Colômbia.

Dasyppus novemcinctus novemcinctus Lin., 1758 — Brasil (Pará e Minas Gerais), Argentina, Guiana Francesa, Venezuela e Colômbia.

Dasyppus novemcinctus fenestratus Peters, 1864 — Panamá, Costa Rica e Guatemala.

Dasyppus novemcinctus mexicanus Peters, 1864 (= *D. novemcinctus texanus*) (Bailey, 1905) — México e Estados Unidos.

Euphractus sexcinctus flavimanus (Desmarest, 1804) — Brasil (Rio Grande do Sul).

Euphractus sexcinctus setosus (Wied, 1826) — Brasil (Minas Gerais).

Euphractus sexcinctus sexcinctus (Lin., 1758) — Venezuela.

Tolypeutes matacos (Desmarest, 1804) — Argentina.

Zaedyx pichyi caurinus (Thomas, 1928) — Argentina.

Parece que o mais importante é o tatu, *Dasyppus novemcinctus* e suas subespécies que, além de ampla distribuição na América (desde os Estados Unidos até a Argentina), é o mais comum e o que com maior frequência se mostra parasitado. No Brasil, CHAGAS¹⁷ observou de 46 a 50% de exemplares infectados; MARTINS, VERSIANI & TUPYNAMBÁ¹⁸, em Minas Gerais, e DEANE¹⁹, no Pará, encontraram respectivamente índices de infecção de 10% e 18%. Na Argentina, ROMANA & SCHURMANN²⁰ observaram índice de infecção de 16%. Na Guiana Francesa, FLOCH & ABONNENC²¹ encontraram 5,6% de tatus infectados. Na Venezuela, PIFANO²² registrou um índice de infecção de 55,31%. No Panamá, CLARK & DUNN²³ observaram a infecção de 21,4% dos exemplares examinados e, na Costa Rica, ZELEDON, SOLANO, BURSTIN & SWARTZWELDER²⁴ assinalaram índices de infecção de 5,4% e 5,6%.

No Panamá, parecem ter importância epidemiológica o tamanduá, *Tamandua tetradactyla* e a preguiça, *Bradypus infuscatus*, que, segundo PIPKIN²⁵, se encontram naturalmente infectados na proporção de 14,2% para cada espécie.

ORDEM CHIROPTERA

O primeiro achado de tripanossomo em morcegos americanos se deve a CARTAYA²⁶, que, em Cuba, encontrou a *Carollia perspicillata perspicillata* infectada por um flagelado a que deu o nome de *T. phyllostomae*; contrariando a opinião de HOARE²⁷ e admitindo a identidade desse tripanossomo com o *T. cruzi*, como pretende BARRETTO⁷, podemos dizer que cabe ao pesquisador cubano a primazia de haver registrado a infecção de um morcego pelo agente da tripanossomose americana.

Desde então, numerosos morcegos americanos têm sido encontrados parasitados por flagelados com caracteres morfológicos idênticos ou semelhantes aos do *T. cruzi*.

Durante muito tempo o problema da correta identificação dos tripanossomos de morcegos permaneceu controverso, a despeito das investigações de CLARK & DUNN²³, no Panamá.

Fixados os critérios de identificação do *T. cruzi* de morcegos e sua distinção do *T. vespertilionis*, principalmente depois dos trabalhos de DIAS²⁸, ZELEDON & VIETO²⁹, DEANE^{22, 23} e BARRETTO⁴ o problema tornou-se um pouco mais claro. Assim, BARRETTO^{4, 6} pôde aceitar como *T. cruzi* os flagelados de *Artibeus jamaicensis jamaicensis* estudado no Panamá por CLARK & DUNN²³, o de *Eumops bonariensis beckeri*, encontrado na Argentina por DIAS & ROMANA²⁵, o de *Eumops auripendulus* do Brasil, referido por NUSSENSWEIG, DEANE & KLOETZEL⁴⁵, o de *Carollia perspicillata perspicillata*, encontrado em Cuba por CARTAYA²⁶ e na Venezuela por DIAS²⁸ e DIAS & PIFANO²² e, finalmente, o de *Phyllostomus hastatus hastatus* da Venezuela, estudado por PIFANO & DIAS⁴⁸.

Investigações realizadas nestes últimos anos, principalmente na Colômbia, por MARINKELLE^{35, 36} e GROSE & MARINKELLE³⁸ e, no Brasil, por FUNAYAMA³², vieram ampliar de muito a lista dos morcegos naturalmente infectados pelo *T. cruzi*.

Analisando cuidadosamente a literatura, chegamos à lista abaixo apresentada. Releva notar que alguns dos morcegos aí enumerados podem ser parasitados por outros flagelados, além do *T. cruzi*, e principalmente pelo *T. vespertilionis*, como assinalaram BARRETTO, SIQUEIRA, FERRIOLLI, CARVALHEIRO, ALBUQUERQUE & FUNAYAMA¹².

FAMÍLIA EMBALLONURIDAE

Peropterix macrotis macrotis (Wagner, 1826) — Colômbia.

Rhynchonycteris naso (Wied, 1820) — Colômbia.

Saccopterix bilineata (Temminck, 1838) — Colômbia.

FAMÍLIA NOCTILIONIDAE

Noctilio labialis albiventer Desmarest, 1818 — Brasil (São Paulo).

Noctilio labialis labialis Kerr, 1792 — Colômbia.

Noctilio leporinus leporinus (Lin., 1758) — Colômbia.

FAMÍLIA PHYLLOSTOMIDAE

Anoura caudifera caudifera (Geoffroy, 1818) — Brasil (Minas Gerais e São Paulo).

Artibeus cinnereus (?) *bogotensis* Anderson, 1906 — Colômbia.

Artibeus jamaicensis jamaicensis Leach, 1821 — Panamá e Colômbia.

Artibeus jamaicensis (?) *planirostris* (Spix, 1823) — Brasil (Ceará).

Artibeus lituratus fallax Peters, 1865 — Guiana Francesa e Venezuela.

Artibeus lituratus (?) *palmarum* Allen & Chapman, 1897 — Colômbia.

Carollia castanea Allen, 1890 — Colômbia.

Carollia perspicillata perspicillata (Lin. 1758) — Brasil (Pará, Minas Gerais e São Paulo), Venezuela, Colômbia, Cuba e Panamá.

Carollia subrufa Hahn, 1905 — Colômbia.

Chiroderma villosum Peters, 1860 — Colômbia.

Glossophaga soricina (?) *leachii* (Gray, 1843) — Panamá.

Glossophaga soricina soricina (Pallas, 1766) — Brasil (Ceará, Minas Gerais e São Paulo) e Colômbia.

Micronycteris brachyotis (Dobson, 1879) — Colômbia.

Micronycteris minuta (Gervais, 1856) — Colômbia.

Mimon bennettii (Gray, 1838) — Colômbia.

Mormops megalophylla megalophylla Peters, 1864 — Colômbia.

Phyllostomus discolor discolor (Wagner, 1843) — Colômbia.

Phyllostomus elongatus (Geoffroy, 1810) — Brasil (Pará) e Venezuela.

Phyllostomus hastatus hastatus (Pallas, 1767) — Brasil (Pará, Distrito Federal e São Paulo), Guiana Francesa e Venezuela.

Phyllostomus hastatus (?) *panamensis* (Allen, 1885) — Colômbia e Panamá.

Rhinophylla pumilio Peters, 1865 — Colômbia.

Sturnira lilium lilium (Geoffroy, 1810) — Colômbia.

Sturnira tildae De la Torre, 1969 — Colômbia.

Trachops cirrhosus (Spix, 1823) — Brasil (Ceará).

Uroderma bilobatum Peters, 1842 — Colômbia e Panamá.

Vampyroides caraccioli ornatus Thomas, 1920 — Colômbia.

Vampyrops helleri Peters, 1866 — Colômbia.

Vampyrum spectrum spectrum (Lin., 1758) — Colômbia.

FAMÍLIA DESMODONTIDAE

Desmodus rotundus rotundus (Geoffroy, 1810) — Brasil (Minas Gerais e São Paulo), Colômbia e Panamá.

Diaemus youngii (Jentick, 1893) — Colômbia.

FAMÍLIA VESPERTILIONIDAE

Dasypterus ega argentinus Thomas, 1910 — Brasil (São Paulo).

Epitesicus brasiliensis argentinus Thomas, 1920 — Argentina.

Epitesicus brasiliensis brasiliensis (Desmarest, 1819) — Brasil (São Paulo).

Epitesicus furinalis (D'Orbigny, 1847) — Argentina.

Histiotus montanus montanus (Phillippi & Landbeck, 1861) — Argentina.

Lasiurus borealis varius (Poeping, 1835) — Argentina.

Lasiurus cinereus villosissimus (Geoffroy, 1806) — Brasil (São Paulo).

Myotis nigricans nigricans (Schinz, 1821) — Colômbia.

FAMÍLIA MOLOSSIDAE

Eumops auripendulus (Shaw, 1800) (= *E. abrasus* Temminck, 1827) — Brasil (São Paulo).

Eumops bonariensis beckeri Sanborn, 1932 — Argentina.

Eumops glaucinus (Wagner, 1843) — Brasil (São Paulo).

Eumops perotis perotis (Schinz, 1821) — Brasil (São Paulo).

Eumops trumbulli (Thomas, 1901) — Colômbia.

Molossops temminckii (?) *griseiventer* Sanborn, 1941 — Colômbia.

Molossus bondae Allen, 1904 — Colômbia.

Molossus major crassicaudatus Geoffroy, 1805 (= *Molossus obscurus auct.*) — Brasil (São Paulo).

Molossus major major (Kerr, 1772) (= *M. obscurus auct.*) — Venezuela e Colômbia.

Tadarida laticaudata (Geoffroy, 1805) — Brasil (São Paulo).

Até há alguns anos, os casos de *T. cruzi* em morcegos constituíam achados esporádicos. Com a intensificação das pesquisas nestes últimos anos, não apenas se ampliou muito a lista de espécies e subespécies com infecção natural, como também se registraram índices de infecção, às vezes, muito elevados.

Trabalhando no Estado do Pará, Brasil, DEANE^{20, 21} encontrou, mediante xenodiagnóstico, 10% dos exemplares de *Carollia perspicillata perspicillata* e 80,4% dos exemplares de *Phyllostomus hastatus hastatus* com infecção natural por tripanossomos que podemos, quase com segurança, identificar como *T. cruzi*. No Estado de São Paulo e áreas limítrofes, Brasil, FUNAYAMA²² encontrou índice global de infecção de 15,7%, entre 22 espécies ou subespécies de morcegos, registrando índices específicos de 37% para *Anoura caudifera caudifera*, 38,9% para a *Carollia perspicillata perspicillata*, 45,8% para o *Desmodus rotundus rotundus* e 75% para o *Phyllostomus hastatus hastatus*.

Mais recentemente, BARBOSA, MARTINS & OLIVEIRA⁸ novamente levantaram a questão da identificação dos tripanossomos de morcegos, considerando os flagelados de *Phyllostomus hastatus* do Distrito Federal, Brasil, como pertencente à subespécie "hastatus" de DIAS²³, aceitando, assim, a teoria de ser o *T. cruzi* uma espécie politípica. Contrariando esse ponto de vista, BARRETTO, RIBEIRO & FERRIOLLI⁷ mostraram que o tripanossomo do referido morcego deve ser identificado como *T. cruzi* e registraram um índice de infecção de 62,5% entre exemplares de *Phyllostomus hastatus hastatus* capturados em Cajuru, Estado de São Paulo.

Na Colômbia, GROSE & MARINKELLE²⁴ observaram fato semelhante. Obtiveram um índice global de 5,6% e índices específicos variáveis que chegaram a 21,9% em *Eumops trumbulli* e 23% em *Phyllostomus hastatus (?) panamensis*.

Decorre do exposto que vários morcegos constituem bons reservatórios do *T. cruzi* e representam importante elo na cadeia epidemiológica da tripanossomose americana, contribuindo efetivamente para a manutenção da enzootia nos focos naturais da infecção.

Releva acrescentar que numerosas espécies de morcegos invadem os nichos artificiais, tanto na zona rural quanto em áreas urbanas, servindo de fonte alimentar para triatomíneos sinantrópicos (BARRETTO⁶), veiculando, através destes, a infecção chagásica para o homem.

ORDEM CARNIVORA

Depois que MAZZA, MIYARA e SANJURJO²⁵, na Argentina, assinalaram a infecção natural do *Gallictis cuja cuja* e do *Dusicyon culpaeus culpaeus*, vários autores têm registrado o encontro de carnívoros silvestres naturalmente parasitados pelo *T. cruzi*. Damos a seguir uma lista desses carnívoros.

FAMÍLIA CANIDAE

Cerdocyon thous azarae (Wied, 1824) — Brasil (São Paulo).

Cerdocyon thous (?) enterrerianus (Burmeister, 1861) — Argentina.

Dusicyon culpaeus andinus (Thomas, 1914) — Argentina.

Dusicyon culpaeus culpaeus (Molina, 1782) — Chile.

Dusicyon griseus gracilis (Burmeister, 1861) — Argentina.

Dusicyon griseus griseus (Gray, 1837) — Chile.

Dusicyon vetulus (Lund, 1842) — Brasil (São Paulo).

Urocyon cinereoargenteus (?) floridanus Rhoads, 1895 — Estados Unidos.

FAMÍLIA PROCYONIDAE

Bassaricyon gabii (?) gabii Allen, 1876 — Panamá.

Nasua nasua (?) aricana Vieira, 1945 — Argentina.

Nasua narica bullata Allen, 1904 — Costa Rica e Panamá.

Nasua narica (?) richmondi Goldman, 1932 — Honduras Britânicas.

Nasua nasua solitaria Schinz, 1821 — Brasil — (São Paulo).

Potos flavus (?) chiriquensis Allen, 1904 — Panamá.

Procyon cancrivorus nigripes Mivart, 1885 — Brasil (São Paulo).

Procyon lotor lotor (Lin., 1758) — Estados Unidos.

Procyon lotor (?) varius Nelson & Goldman, 1930 — Estados Unidos.

Procyon lotor (?) shufeldti Nelson & Goldman, 1930 — Guatemala.

Procyon lotor (?) crassidens Hollister, 1914 — Costa Rica.

FAMÍLIA MUSTELIDAE

Conepatus semistriatus trichurus Thomas, 1905 (= *C. tropicalis trichurus* Thomas, 1905) — Costa Rica.

Eira barbara barbara (Lin., 1758) — Brasil (Mato Grosso e São Paulo) e Argentina.

Eira barbara (?) poliocephala (Trail, 1812) — Brasil (Pará).

Eira barbara (?) sinuensis (Humboldt, 1812) — Colômbia.

Galictis cuja cuja (Molina, 1782) (= *Grissonella ratellina* Thomas, 1921) — Argentina.

Galictis cuja furax (Thomas, 1907) — Brasil (São Paulo).

Galictis cuja huronax (Thomas, 1921) — Argentina.

Galictis vittata brasiliensis (Thunberg, 1820) — Brasil (São Paulo).

Mephitis mephitis nigra (Peale e Palisot de Beauvois, 1796) — Estados Unidos.

FAMÍLIA FELIDAE

Felis jaguaroundi (?) *ameghinoi* Holmberg, 1898 — Argentina.

Entre os carnívoros silvestres os achados do *T. cruzi* têm sido, em geral, esporádicos e não se pode fazer uma idéia mais precisa do papel desses mamíferos na cadeia epidemiológica da tripanossomose americana.

Em alguns casos, porém, os achados parecem significativos. Assim, no Pará, Brasil, RODRIGUES & MELLO⁵² registraram a infecção natural da irara, *Eira barbara poliocephala*, em 25% dos exemplares estudados. Na região nordeste do Estado de São Paulo, embora o número de animais de cada espécie não seja grande, até agora conseguimos (dados não publicados) registrar os seguintes índices de infecção: irara, *Eira barbara barbara* — 20%; furão, *Galictis cuja furax* — 28,6%; coati, *Nasua nasua solitaria* — 13,3%. Devemos acrescentar que, em cerca de uma centena de carnívoros, entre os quais se incluem o cachorro-do-mato, *Cerdocyon thous azarae*, a raposa do campo, *Dusicyon vetulus* e o furão, *Galictis vittata brasiliensis*, além dos três acima mencionados, observamos um índice global de infecção de 8,6%.

ORDEM LAGOMORFA

A primeira referência à infecção natural de um lagomorfo se deve a DAO²¹ que na Venezuela referiu o encontro de uma lebre naturalmente parasitada pelo *T. cruzi*. Segundo DIAZ-VAZQUEZ²², o lagomorfo em questão é o *Sylvilagus orinoci*, hoje considerado por CABRERA¹⁵ como *Sylvilagus floridanus orinoci* Thomas, 1900, da família Leporidae.

ORDEM RODENTIA

Parece que a primeira observação de um roedor infectado pelo *T. cruzi* se deve a E. Vilela que encontrou uma cotia com infecção natural. Mas, o primeiro caso publicado foi o de CLARK & DUNN²³ que, no Panamá, registraram a infecção do *Sciurus granatensis morulus*. Desde então, cerca de 50 roedores pertencentes a várias famílias e diferentes gêneros têm sido encontrados infectados em diversos países da América.

FAMÍLIA SCIURIDAE

Citellus leucurus cinnamomeus (Merriam, 1903) — Estados Unidos.

Sciurus aestuans ingrami (Thomas, 1901) — Brasil (São Paulo).

Sciurus aestuans gilvularis Wagner, 1842 — Venezuela.

Sciurus ignitus argentinnius Thomas, 1921 — Argentina.

Sciurus igniventris? — Colômbia.

Sciurus granatensis morulus Bangs, 1900 (= *S. gerrardi* auct.) — Panamá.

FAMÍLIA CRICETIDAE

Akodon arviculoides cursor (Winge, 1887) — Brasil (São Paulo).

Akodon lasiotis (Lund, 1841) — Brasil (São Paulo).

Akodon nigrinus nigrinus (Lichtenstein, 1829) — Brasil (São Paulo).

Calomys expulsus (Lund, 1841) — Brasil (Goiás).

Calomys tener (Winge, 1888) — Brasil (São Paulo).

Nectomys squamipes (?) *amazonicus* Hershkovitz, 1944 — Brasil (Pará).

Nectomys squamipes squamipes (Brants, 1827) — Brasil (São Paulo).

Neotoma albigula albigula Hartley, 1894 — Estados Unidos.

Neotoma fuscipes macrotis Thomas, 1893 — Estados Unidos.

Neotoma micropus canescens Allen, 1891 — Estados Unidos.

Neotoma micropus micropus Baird, 1855 — Estados Unidos.

Oryzomys capito laticeps (Lund, 1841) — Brasil (Minas Gerais e São Paulo).

Oryzomys concolor (?) — Venezuela.

Oryzomys nigripes (Desmarest, 1819) — Brasil, (São Paulo).

Oryzomys subflavus (Wagner, 1842) — Brasil (São Paulo).

Oxymycterus hispidus questor Thomas, 1903 — Brasil (São Paulo).

Peromyscus boylei rowleyi (Allen, 1893) — Estados Unidos.

Peromyscus truei gilberti (Allen, 1893) — Estados Unidos.

Phyllotis griseoflavus (?) *cachinits* (Allen, 1901) — Panamá.

Sigmodon hispidus (?) *bogotensis* Allen, 1897 — Colômbia.

Sigmodon hispidus (?) *saturatus* Bailey, 1902 — Salvador.

Thomasomys dorsalis colinus (Thomas, 1917) — Brasil (São Paulo).

Tylomys panamensis (Gray, 1873) — Panamá.

Wiedomys pirrhorkhinus (Wied, 1821) — Brasil (Minas Gerais).

Zygodontomys lasiurus lasiurus (Lund, 1841) — Brasil (São Paulo).

Zygodontomys lasiurus pixuna Moojen 1943 — Brasil (Pernambuco).

FAMÍLIA OCTODONTIDAE

Octodon degus (Molina, 1782) — Chile.

FAMÍLIA ECHIMYIDAE

Cercomys cunicularius cunicularius Cuvier, 1829 — Brasil (Minas Gerais e São Paulo).

Cercomys cunicularius laurentius (Thomas, 1903) — Brasil (Ceará).

Diplomys labilis (Bangs, 1901) — Panamá.

Echymys semivillosus (?) *carrikeri* Allen, 1911 — Venezuela.

Proechimys guayanensis (?) *chrysaecolus* (Thomas, 1898) — Colômbia.

Proechimys semispinosus (?) *panamensis* Thomas, 1900 — Panamá.

FAMÍLIA CAVIIDAE

Cavia aperea aperea Erxleben, 1777 — Brasil (São Paulo).

Galea spixii spixii (Wagler, 1831) — Brasil (Ceará)

FAMÍLIA DASYPROCTIDAE

Dasyprocta aguti aguti (Linnaeus, 1766) — Brasil (Espírito Santo)

Dasyprocta aguti cayana (Lacepède, 1802) (= *D. rubrata* Thomas, 1898) — Venezuela.

Dasyprocta azarae azarae Lichtenstein, 1823 — Brasil (Minas Gerais e São Paulo).

Dasyprocta fuliginosa (?) *candelensis* Allen, 1915 — Colômbia.

Dasyprocta punctata (?) *isthmica* Alston, 1876 — Panamá.

Dasyprocta punctata (?) *zamorae* Allen, 1915 — Equador.

FAMÍLIA AGOUTIDAE

Agouti paca paca (Lin., 1758) (= *Celogenys subniger* Cuvier, 1807) — Venezuela.

FAMÍLIA ERETHIZONTIDAE

Coendou insidiosus insidiosus (Kuhl, 1820) — Brasil (São Paulo).

Coendou mexicanus laenatus Thomas, 1903 — Costa Rica.

Coendou prehensilis prehensilis (Lin., 1758) — Venezuela.

Coendou rothehildi (?) — Colômbia.

Coendou vestitus pruinosus Thomas, 1905 — Venezuela.

A infecção natural dos roedores silvestres tem constituído achados esporádicos na maioria dos casos. Mas, investigações mais extensivas levadas a efeito na Venezuela por PIFANO¹⁶, mostraram índices de infecção de 15,38% para o *Sciurus aestuans gilvularis*, 40% para o *Coendou prehensilis prehensilis*, 22,22% para a *Dasyprocta aguti cayana*, 12,5% para o *Cuniculus paca paca* e 100% para o *Oryzomys concolor*.

No Estado de São Paulo, Brasil, trabalhos da equipe da Faculdade de Medicina e da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Ribeirão Preto, reunidos por RIBEIRO¹⁰, registram um índice de infecção de 12,3% para o total de roedores silvestres examinados. Os índices específicos variaram, mas, em alguns casos, atingiram cifras relativamente altas: 12,8% para a *Cavia aperea aperea*, 15,8% para a *Dasyprocta azarae azarae* e 18,4% para o *Akodon arviculoides cursor*. Esses dados mostram que, pelo menos em certas áreas, alguns roedores silvestres constituem bons elos na cadeia epidemiológica da tripanossomose americana, contribuindo para a manutenção da enzootia nessas áreas.

ORDEM PRIMATES

O primeiro achado de um tripanossomo em macaco americano se deve a BERENBERG-GOSSLER¹¹ que descreveu o *T. prowazeki* do *Cacajao calvus* da Amazônia. Considerado espécie distinta por LAVERAN e MESNIL¹², WENYON¹³ e outros, o *T. prowazeki* é tido como idêntico ao *T. cruzi* por diversos autores. A ser aceito este ponto de vista, *T. cruzi* seria sinônimo de *T. prowazeki*. Julgamos, porém, o problema discutível até que se reestude detalhadamente o flagelado do *Cacajao calvus*.

Assim sendo, parece que o primeiro registro da infecção natural de um macaco foi feito por ABEN-ATHAR¹ que, na Amazônia Brasileira observou o *Saimiri sciureus sciureus* naturalmente parasitado, sendo a identificação do parasita como *T. cruzi* feita por CHAGAS¹⁰.

Desde então, diversos pesquisadores têm procurado o parasita em diferentes macacos, tendo como resultado o encontro da infecção natural das formas abaixo relacionadas.

FAMÍLIA CEBIDAE

Alouatta caraya (Humboldt, 1812) — Brasil (São Paulo).

Alouatta seniculu senicula (Linnaeus, 1766) — Colômbia.

Alouatta senicula (?) *straminea* (Humboldt, 1812) — Venezuela.

Aotus trivirgatus (?) *griseimembra* Elliot, 1861 — Panamá.

Ateles belzebuth hybridus Geoffroy, 1829 — Colômbia.

Ateles fuscipes fuscipes Gray, 1866 — Panamá.

Ateles geoffroyi grisescens Gray, 1865 — Colômbia.

Callicebus nigrifrons (Spix, 1823) — Brasil (Minas Gerais).

Callicebus ornatus (Gray, 1866) — Colômbia.

Cebus albifrons unicolor Spix, 1823 — Colômbia.

Cebus apella (?) *apella* (Lin., 1758) — Guiana Francesa, Venezuela e Colômbia.

Cebus apella versutus Elliot, 1910 — Brasil (São Paulo).

Cebus capucinus capucinus (Lin., 1758) — Colômbia e Panamá.

Saimiri oerstedii oerstedii (Reinhardt, 1872) — Panamá.

Saimiri sciureus (?) *macrodon* Elliot, 1907 (= *S. sciureus boliviensis* auct.) — Peru e Colômbia.

Saimiri sciureus sciureus (Lin., 1758) — Brasil (Pará) e Panamá (?).

FAMÍLIA CALLITHRICIDAE

Callithrix argentata melanura (Geoffroy, 1812) — Brasil (Mato Grosso).

Callithrix geoffroyi (Humboldt, 1812) — Brasil (Espírito Santo).

Callithrix jacchus (Lin., 1758) — Brasil (Ceará).

Callithrix penicillata jordani (Thomas, 1904) — Brasil (Minas Gerais).

Cebuella pygmaea pygmaea (Spix, 1823) — Colômbia.

Leontocebus geoffroyi (Pucheran, 1845) — Panamá.

Leontocebus nigricollis (Spix, 1823) — Colômbia.

Marikina leucopus (Günther, 1876) — Colômbia.

Como assinala BARRETTO^{4, 6, 8}, os achados de símios americanos naturalmente infectados são, em geral, pouco numerosos.

No Brasil, ABEN-ATHAR¹ refere o encontro de flagelados em 45% dos macacos-de-cheiro, *Saimiri sciureus sciureus*, na Amazônia Brasileira, como já vimos. Investigando o problema na Região Nordeste do Estado de São Paulo, BARRETTO, SIQUEIRA, FERRIOLI & CARVALHEIRO¹² encontraram exemplares de *Cebus apella versutus* infectados em 12,7% dos casos. Revendo nossos arquivos (dados não publicados), encontramos quatro exemplares desse símio infectados entre 19 examinados, o que dá um índice de 21%. Recentemente tivemos a oportunidade de examinar um lote de *Callithrix geoffroyi*, procedente do Sul do Estado do Espírito Santo, encontrando três exemplares infectados entre 46 examinados, o que dá um índice de 6,5%.

Na Venezuela, PIFANO⁴⁶ registrou índices de infecção de 11,76% para *Alouatta senicola straminea* e de 41,66% para o *Cebus apella apella*. Mais recentemente, no Panamá, SOUSA, ROSSA & BAERG⁵⁶, examinando 3.523 exemplares de diversos símios, obtiveram um índice global de infecção de 1,7%. As duas formas que parecem ter maior importância epidemiológica são o *Cebus capucinus capucinus* e o *Leontocebus* (= *Saguinus*) *geoffroyi*, para os quais registraram índices de infecção de 5% e 12,2% respectivamente.

Os demais casos constituem achados isolados e, assim, o papel dos símios americanos como reservatórios do *T. cruzi* constitui ainda campo aberto a futuras investigações.

RIALA6/471

BARRETTO, M.P. & RIBEIRO, R.D. — Wild reservoirs of *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* Chagas, 1909. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):25-36, 1979.

SUMMARY: Adopting A. Cabrera's (1957-60) and G.S. Miller & R. Kellogg's (1955) taxonomies and nomenclatures for the American mammals, the Authors organize an up-to-date list of wild animals found with natural infection by *Trypanosoma cruzi* in the various countries of the American Continent. The importance of the various groups of reservoirs in the epidemiology of American trypanosomiasis is discussed on the basis of a critical review of the literature and of personal experience.

DESCRIPTORS: *Trypanosoma cruzi*; trypanosomiasis, South American; wild animals; diseases reservoirs; Chagas'disease.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABEN-ATHAR, J. — Primeiro anno de funcionamento do Instituto de Higiene de Belém. In: ARAUJO, H.C.S. — *A prophylaxia rural no Estado do Pará*. Belém, Gillet, 1922. v. 1, p. 190.
2. ALVAREZ CRESPO, J. — Informaciones epidemiológicas de la enfermedad de Chagas en la localidad Guayaquil, 1942-1946. *Gac. méd., Guayaquil*, 1:311-18, 1947.
3. BARBOSA, W.; MARTINS, S.P. & OLIVEIRA, R.L. — Nota preliminar sobre *Trypanosoma* variedade, *hastatus* isolado de *Phyllostomus hastatus* da Caverna de Fercal, DF — Brasil. *Rev. Patol. trop.*, 2:367-76, 1973.
4. BARRETTO, M.P. — Reservatórios de *Trypanosoma cruzi* nas Américas. *Rev. bras. Malar. Doeng. trop.*, 16:527-52, 1964.
5. BARRETTO, M.P. — Tripanossomos semelhantes ao *Trypanosoma cruzi* e sua identificação com o agente etiológico da doença de Chagas. *Rev. Inst. Med. trop., S. Paulo*, 7:305-15, 1965.
6. BARRETTO, M.P. — Reservatórios do *Trypanosoma cruzi*. In: CANÇADO, J.R., ed. — *Doença de Chagas*. Belo Horizonte, Impr. Oficial do Estado, 1968. p. 163-88.
7. BARRETTO, M.P. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres de *Trypanosoma cruzi*. XLIII — Sobre a validade das espécies americanas de flagelados incluídos no subgênero *Schizotrypanum* Chagas, 1909 do gênero *Trypanosoma* Gruby, 1843. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 12:272-78, 1970.
8. BARRETTO, M.P. — Reservatórios do *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* Chagas 1909 In: SIMPOSIO INTERN. ENFERMEDAD DE CHAGAS, Buenos Aires, 1972. p. 357-70.
9. BARRETTO, M.P.; RIBEIRO, R.D. & FERRIOLLI FILHO, F. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. LVII — Infecção natural do *Phyllostomus hastatus hastatus* (Pallas, 1967) pelo *T. cruzi*. *Rev. bras. Biol.*, 34:615-622, 1974.
10. BARRETTO, M.P.; SIQUEIRA, A.F.; CORRÊA, F.M.A.; FERRIOLLI FILHO, F. & CARVALHEIRO, J.R. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. VII — Investigações sobre a infecção natural de gambás por tripanossomos semelhantes ao *T. cruzi*. *Rev. bras. Biol.*, 24:289-300, 1964.
11. BARRETTO, M.P.; SIQUEIRA, A.F.; FERRIOLLI FILHO, F. & CARVALHEIRO, J.R. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. X — Observação sobre a infecção natural e experimental da cuíca, *Luttreolina crassicaudata crassicaudata* (Desm., 1904) por tripanossomos semelhantes ao *T. cruzi*. *Rev. bras. Biol.*, 25:237-48, 1965.
12. BARRETTO, M.P.; SIQUEIRA, A.F.; FERRIOLLI FILHO, F. & CARVALHEIRO, J.R. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XI — Observações sobre um foco natural da tripanossomose americana no Município de Ribeirão Preto, São Paulo. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 8:103-12, 1966.
13. BARRETTO, M.P.; SIQUEIRA, A.F.; FERRIOLLI FILHO, F.; CARVALHEIRO, J.R.; ALBUQUERQUE, R.D.R. & FUNAYAMA, G.K. — Estudos sobre reservatórios e vectores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXVII — Infecção natural de quirópteros pelo *Trypanosoma vesperilionis* Bataglia, 1904. *Rev. bras. Biol.*, 28:147-55, 1968.
14. BERENBERG-GOSSLER, H. — Ueber ein neuer Trypanosome im Blute eines sudamerikanischen Affen (*Onkaria calva*). *Arch. Schiffs-u. Tropenhyg.*, 12:541, 1908.
15. CABRERA, A. — Catálogo de los mamíferos da America del Sur. *Rev. Mus. argent. Cienc. nat. Bernardino Rivadavia*, 4:1-752, 1957-60.
16. CARTAYA, J.T. — Nueva filaria y otros parásitos en la sangre del murciélago *Artibeus perspicillatus*. *Sanid. Benefic. Bol. Ofic.*, Habana, 3:503-9, 1910.
17. CHAGAS, A. — Sobre um tripanosomo do tatu, *Tatusia novemcincta*, transmitido pelo *Triatoma geniculata* Latr. (1811). *Brazil méd.*, 26:305-6, 1912.
18. CHAGAS, C. — Hosts of the *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Med. Cir. Brazil*, 26:220-3, 1918.
19. CHAGAS, C. — Sobre a verificação do *Trypanosoma cruzi* em macacos do Pará (*Chylothrix sciureus*). *Sci. med.*, 2:75-6, 1924.
20. CLARK, H.C. & DUNN, L.H. — Experimental studies on Chagas'disease in Panamá. *Am. J. trop. Med.*, 12:49-77, 1932.
21. DAO, L. — La enfermedad de Chagas en el Distrito Aragua (Estado Anzoátegui, Venezuela). *Rev. Policlín.*, Caracas, 14:398-442, 1945.
22. DEANE, L.M. — Tripanossomídeos mamíferos da Região Amazônica. I. Alguns flagelados encontrados no sangue de mamíferos silvestres do Estado do Pará. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 3:15-28, 1961.

23. DEANE, L.M. — Animal reservoirs of *Trypanosoma cruzi* in Brazil. *Rev. bras. Mal. Doenç. trop.*, 16:27-43, 1964.
24. DEANE, L.L. — Tripanosomídeos de mamíferos da Região Amazônica. IV. Hemoscopia e xenodiagnóstico de animais silvestres da Estrada Belém-Brasília. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 9:143-8, 1967.
25. DIAS, E. — Sobre um *Schizotrypanum* dos morcegos *Lonchoglossa ecaudata* e *Carollia perspicillata* do Brasil. *Mems Inst. Oswaldo Cruz*, 35:399-409, 1940.
26. DIAS, E. — Chagas Krankheit. In: RODENWALDT, E. — *Welt Sechen Atlas*. Hamburg, Volk Verlag., 1954. v. 2, p. 137.
27. DIAS, E. & PIFANO, F. — Estudo experimental de um *Schizotrypanum* do morcego *Hemiderma perspicillatum* da Venezuela. *Mems Inst. Oswaldo Cruz*, 36:79-98, 1941.
28. DIAS, E. & ROMANA, C. — Algumas investigações sobre *Schizotrypanum* de quirópteros. *Mems Inst. Oswaldo Cruz*, 34:619-25, 1939.
29. DIAS-VASQUEZ, A. — Consideraciones epidemiológicas de la enfermedad de Chagas. *Archos venez. Med. trop. Parasit. méd.*, 3:187-201, 1960.
30. ESPINOSA, L.A. — Epidemiología de la enfermedad de Chagas en la República del Ecuador. *Rev. ecuat. Hig. Med. trop.*, 12:25-105, 1955.
31. FLOCH, H. & ABONNENC, E. — Trypanosomes des mammifères sylvestres, autres que *S. cruzi* en Guyane Française. *Publ. Inst. Pasteur, Guyane*, 21:6, 1949.
32. FUNAYAMA, G.K. — Contribuição para o estudo da infecção natural de quirópteros pelo *Trypanosoma cruzi*. Ribeirão Preto, 1971. [Tese — Fac. Farm. Odontol. Ribeirão Preto, USP] 101 p.
33. GROSE, E. & MARINKELLE, C.J. — A study of non-viral micro-parasites of Colombian bats. *Rep. U.S. Dep. Army*, 3:67, 1969.
34. GUIMARÃES, F.N. & JANSEN, G. — Novo transmissor silvestre do *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* (Chagas, 1909). *Mems Inst. Oswaldo Cruz*, 38:437-41, 1943.
35. HOARE, C.A. — *The trypanosomes of mammals: a zoological monograph*. Oxford, Blackwell, 1972. p. 749.
36. LAVERAN, A. & MESNIL, V. — *Trypanosomes et trypanosomoses*. Paris, Masson, 1912.
37. McKEEVER, S.; GORMAN, G.W. & NORMAN, L. — Occurrence of a *Trypanosoma cruzi*-like organisms in some mammal from Southwestern Georgia and Northwestern Florida. *J. Parasit.*, 44:583-7, 1958.
38. MARINKELLE, C.J. — Observations on human, monkey and bat trypanosomes and their vectors in Colombia. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 60:109-16, 1966
39. MARINKELLE, C.J. — Epidemiology of Chagas'disease in Colombia. In: INT. SYMP. ON NEW APPROACHES IN AMERICAN TRYPANOSOMIASIS RESEARCH, Belo Horizonte, 1975. *Proceedings*. Pan American Health Organization, Washington, 1976. p. 340-6 [PASB, scientific publication n.º 318]
40. MARTINS, A.V.; VERSIANI, W. & TUPY-NAMBÁ, A.A. — Estudos sobre a moléstia de Chagas no Estado de Minas Gerais. I. Estudo epidemiológico de um foco da moléstia no Município de Jaboticatubas. *Archos Inst. quim.-biol. Minas Gerais*, 1:5161, 1945.
41. MAZZA, A.; MIYURA, S.J. & SANJURJO, H.S. — Comprobación de animales domésticos y de nuevas especies de mamíferos silvestres portadores de *Schizotrypanum cruzi* en los alrededores de la ciudad de Mendoza. In: RUENIAO SOC. ARG. PAT. REG., 9a, 1936.
42. MAZZA, S. & SCHEIBER, F. — Hallazgo en el Dep. Gral. Obligado, Sta. Fé, de otra especie de mustelido naturalmente infectado con *S. cruzi*; de *T. infestans* infectados en nidos de comadrejas; de *T. platensis* infectados en nidos de psitacidos y de *P. coreodes* sin infestación en nidos de dendrocolaptidos. *Publ. MEPPRA*, 34:17-35, 1938.
43. MILES, M.A. — Distribution and importance of Triatominae as vectors of *T. cruzi*. In: INT. SYMP. ON NEW APPROACHES IN AMERICAN TRYPANOSOMIASIS RESEARCH, Belo Horizonte, 1975. *Proceedings*. Pan American Health Organization, Washington, 1976. p. 48-53. [PASB, scientific publication N.º 318]
44. MILLER, G.S. & KELLOG, R. — List of North American recent mammals. *U.S. nat. Mus. Bull.*, 205:1-954, 1955.
45. NUSSENZWEIG, V.N.; DEANE, L.M. & KLOETZEL, J. — Differences in antigenic constitution of strains of *Trypanosoma cruzi*. *Expl. Parasit.*, 14:221-32, 1963.
46. PIFANO, F. — *Alguns aspectos en la ecología y epidemiología de las enfermedades endémicas con focos naturales en el area tropical, especialmente en Venezuela*. Caracas, Minist. Sanid. Asist. Soc., 1969. 297 p.

47. PIFANO, F. — La dinámica de la enfermedad de Chagas en el Valle de los Naranjos, Estado Carabobo, Venezuela. I. Contribución ao estudio de los focos naturales silvestres del *Schizotrypanum cruzi* Chagas, 1909. *Archos Venez. Med. trop. Parasit. méd.* 5(2):3-29, 1973.
48. PIFANO, F. & DIAS, E. — Investigações sobre *Schizotrypanum* do morcêgo *Phyllostomus hastatus*. *Rev. bras. Biol.*, 2: 99-102, 1942.
49. PIPKIN, A.C. — Domiciliary reduviid bugs and the epidemiology of Chagas'disease in Panama. *J. med. Ent.*, 5:107-24, 1968.
50. RIBEIRO, R.D. — Contribuição para o estudo da infecção natural de roedores brasileiros pelo *Trypanosoma cruzi*. Ribeirão Preto, 1971. [Tese livr.-doc. — Farm. Odont. Ribeirão Preto, USP]
51. ROBERTSON, A. — Note on a trypanosome morphologically similar to *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909, found in a opossum, *Didelphis marsupialis* captured at Tela, Honduras, Central America. 18th Ann. Rep. Mes. Dept. United Fruit Co., 1929. p. 293-310.
52. RODRIGUES, B.A. & MELLO, G.B. — Contribuição ao estudo da tripanosemiase americana. *Mems Inst. Oswaldo Cruz*, 37: 77-94, 1942.
53. ROMAÑA, C. & SCHURMANN, K. — La infección espontanea y la experimental del tatu del Chaco Santafecino por el *Trypanosoma cruzi*. In: REUNIÓN SOC. ARGENT. PATOL. REG. NORTE, 7a, Tucuman, 1931. v. 2, p. 969-80.
54. SILVA, E.O.R.; ANDRADE, J.C.R. & LIMA, A.R. — Importância dos animais sinantrópicos no controle da endemia chagásica. *Rev. Saúde públ.*, São Paulo, 9:371-81, 1975.
55. SOUSA, O.E. — Anotaciones sobre la enfermedad de Chagas en Panamá. Frecuencia y distribución de *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli*. *Rev. Biol. trop.*, 20:167-79, 1972.
56. SOUSA, O.E.; ROSSA, R.N. & BAERG, D.C. — The prevalence of Trypanosomes and microfilariae in Panamanian monkeys. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 23: 862-868, 1974.
57. WENYON, C.M. — *Protozoology*. New York, William Wood, 1926. v. 1, 773 p.
58. ZELEDON, R.; SOLANO, G.; BURSTIN, L. & SWARTZWELDER, J.C. — Epidemiological pattern of Chagas'disease in an endemic area of Costa Rica. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 24:214-25, 1975.
59. ZELEDON, R.; SOLANO, G.; SAENZ, G. & SWARTZWELDER, J.C. — Wild reservoirs of *Trypanosoma cruzi* with special mention of the opossum, *Didelphis marsupialis*, and its role in the epidemiology of Chagas' disease in an endemic area of Costa Rica. *J. Parasit.*, 56:38, 1970.
60. ZELEDON, R. & VIETO, P.L. — Comparative studies of *Schizotrypanum cruzi* Chagas, 1909, and *S. vespertilionis* (Bagtaglia, 1904) from Costa Rica. *J. Parasit.*, 44:499-502, 1958.

Recebido para publicação em 29 de junho de 1978.

CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DE HORTALIÇAS COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE SÃO PAULO, SP, BRASIL

Dilma Scala GELLI **
Takako TACHIBANA **
Irani Rodrigues de OLIVEIRA **
Claydes de Quadros ZAMBONI ***
Judirce Arruda PACHECO ***
Nazareth SPITERI ***

RIALA6/472

GELLI, D. S.; TACHIBANA, T.; OLIVEIRA, I. R.; ZAMBONI, C. Q.; PACHECO, J. A. & SPITERI, N. — Condições higiênico-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de São Paulo, SP, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39 (1) :37-43, 1979.

RESUMO: Os exames bacteriológicos realizados em 125 amostras de 4 qualidades diferentes de hortaliças procedentes de 18 localidades de São Paulo, expostas à venda no comércio da Capital, revelaram a presença de *Escherichia coli* em 93 (74,40%), com a seguinte ocorrência entre as verduras: 41 amostras de alface, 22 positivas (53,64%); 35 de escarola, 27 positivas (77,14%); 26 de rúcula, 23 positivas (88,46%) e 23 de agrião, 21 positivas (91,30%). A pesquisa de *E. coli* dos sorotipos da gastroenterite infantil foi positiva em 5 amostras e a pesquisa de salmonela foi negativa nas 125 amostras analisadas; 9 amostras de cada qualidade de hortaliça, num total de 36 amostras, foram positivas para enterococos. De 113 amostras analisadas, 67 foram positivas para ovos e/ou larvas semelhantes às de ancilostomídeos e 6, positivas para *Strongyloides*.

DESCRITORES: hortaliças, determinação de contaminantes microbianos; hortaliças, determinação de contaminantes parasitários.

INTRODUÇÃO

Os exames microbiológicos e microscópicos dos gêneros alimentícios são de importância sob vários aspectos tais como averiguação das condições higiênicas que envolvem a produção, armazenamento, transporte e manuseio dos alimentos; caracterização da efetividade de processos químicos e físicos de desinfecção; elucidação de quais os veículos alimentares que mantêm os estados infectantes de parasitas ou favorecem a ocorrência de tóxi-infecções alimentares; reconhecimento dos microrganismos ambientais e sua relação com os gê-

neros alimentícios, e contribuição para o processo de educação sanitária dos manipuladores e consumidores, assim como para a economia e a saúde pública, por analisarem métodos que eliminam e/ou injuriam ou que não permitem o desenvolvimento dos patogênicos e deteriorantes dos alimentos.

Todos os gêneros alimentícios prontos para o consumo devem ser objeto de exames físicos, químicos, microbiológicos e microscópicos. Pesquisas realizadas por outros autores demonstraram que as frutas e verduras podem fazer parte da cadeia epidemiológica de infecções microbianas e parasitárias ^{7, 12, 21}.

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

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

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

Entretanto, é praticamente impossível que esse grupo de alimentos não processados seja veiculador de toxinas pré-formadas, como por exemplo a toxina botulínica. Porém, como o *Clostridium botulinum* está presente no solo e, portanto, é comum encontrá-lo nos vegetais, conservas mal acondicionadas ou mal armazenadas podem permitir o desenvolvimento desse agente, com conseqüente produção de toxina¹⁴.

A presença dos contaminantes microbianos nas verduras tem como causa principal a existência dos mesmos no solo. É também expressão do ecossistema de cultivo, transporte, manuseio, contacto do produto com animais como aves, moscas, ratos etc. 1, 2, 3, 4, 6, 7, 11, 12, 16, 19, 20, 21.

Os resultados dos exames microbiológicos e parasitológicos das verduras, entretanto, devem ser analisados considerando os fatores ambientais do solo. A flora microbiana e parasitária do mesmo, via de regra, está presente nas verduras e é composta por microrganismos ubiqüitários desse ambiente de cultivo, como bacilos aeróbios e anaeróbios, coliformes ambientais, bacilos Gram-negativos, como as *Pseudomonas*, cromobactérias, fungos, assim como de helmintos e protozoários não relacionados com as parasitoses humanas. Estes organismos fazem parte do ciclo de decomposição e regeneração dos solos, ou são simbioses entre si; ainda, ocorrem microrganismos ou substâncias por eles elaboradas, com ação antimicrobiana, que são antagonistas naturais^{5, 9, 11, 22}.

Os microrganismos que têm maior significado para a saúde pública são os que indicam contaminação fecal, em especial a *Escherichia coli*, os enterococos, as *Salmonellas*, a *Shigella* sp., os enterovírus e os parasitas intestinais do homem. A *E. coli* e os enterococos, pela facilidade de isolamento e de caracterização laboratorial, são parâmetros usados como indicadores por excelência da presença de material fecal, posto que não se multiplicam no ambiente e são abundantes nas fezes do homem e dos animais^{3, 5, 10, 17, 18}. Do mesmo modo que as bactérias patogênicas citadas, esses microrganismos são eliminados pelo sistema ecológico e pelas condições adversas do solo^{17, 18}. Podem permanecer por períodos mais ou menos longos, dependendo de sua própria resistência e das condições do ambiente.

A sobrevivência dos helmintos, em particular, depende das características geológicas do solo, da umidade e das condições climáticas. Há dificuldades de ordem técnica para a correta identificação, no solo e em vegetais, de alguns helmintos causadores de parasitoses humanas, como os ancilostomídeos, cujos ovos são muito semelhantes aos de certos nematóides parasitas de animais. A identificação adequada, através das larvas, pressupõe o cultivo dos ovos, o que nem sempre é possível no material isolado de hortaliças, em virtude da pequena quantidade de ovos encontrados. Já no caso do *Ascaris lumbricoides* estas dificuldades não ocorrem, o que permite assegurar o papel epidemiológico do solo na sua transmissão¹³.

Com a finalidade de obtenção de dados da presença de contaminantes de origem fecal nas hortaliças normalmente consumidas sem cocção prévia, foi realizado o presente trabalho, para o qual colaboraram a Secretaria dos Negócios Metropolitanos do Estado, através de sua Assessoria Técnica e do EMLASA, e a Secretaria da Agricultura do Estado, através de sua Coordenadoria de Assistência Técnica Integral.

MATERIAL E MÉTODOS

Hortaliças frescas, à venda no comércio da Capital, procedentes de dezoito áreas geográficas diferentes (Mogi das Cruzes, Suzano, Embu, Itapeverica da Serra, Biritiba Mirim, Cotia, Arujá, Salesópolis, Itaquaquecetuba, Ribeirão Pires, Diadema, Jundiaí, Caucaia, Santo Amaro, Eldorado, Mauá, Embu-Guaçu) foram analisadas, num total de 125 amostras (41 de alface, 35 de escarola, 26 de rúcula e 23 de agrião).

Cada amostra foi coletada separadamente em sacos plásticos, no momento em que as hortaliças estavam sendo descarregadas dos caminhões para os locais de comércio, sempre por uma única e mesma pessoa. As amostras eram enviadas ao laboratório e analisadas de imediato.

O exame laboratorial compreendeu:

Exame bacteriológico

- a) 300 ml de caldo lactosado estéril foram despejados sobre a hortaliça, dentro do próprio saco plástico usado para conter a amostra, e agitados vigorosamente por cerca de 30 seg (para assegurar a lavagem também das partes internas da verdura);
- b) o caldo lactosado foi então recolhido em frasco estéril;
- c) 25 ml do caldo foram semeados em 225 ml de caldo selenito e outros 25 ml, em caldo tetrationato (segundo Kauffmann), incubados a 42°C por até 5 dias e semeados em cada dia sucessivo em placas de SS (*Salmonella-Shigella* Agar) e de BG (*Brilliant Green* Agar), que foram incubadas a 36±1°C/24h; 3-5 colônias típicas que se desenvolveram foram isoladas em meio presuntivo para identificação de enterobactérias (meio IAL¹⁵);
- d) do caldo lactosado, usado para a lavagem, obtiveram-se diluições seriadas, usando-se 1,0 ml da diluição precedente em 9,0 ml de solução salina peptonada (a 0,1%) estéril — diluições de trabalho: 10⁰, 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³;
- e) usando-se a técnica do NMP (Número Mais Provável), foi semeado 1,0 ml de cada diluição em 3 tubos de caldo lactosado-bile-verde-brilhante (concentração simples), incubados a 44,5°C/48h (em banho-maria); o material dos que apre-

sentavam formação de gás no tubinho de Durhan invertido no meio (positivos) foi semeado em placas com meio de Holt-Harris e Teague, pelo método de estrias; após incubação a $36 \pm 1^\circ\text{C}/24\text{ h}$, 3-5 colônias típicas que se desenvolveram foram isoladas em meio IAL,¹⁵ para a identificação e caracterização de *E. coli*;

- f) pela técnica de soroaglutinação, as cepas de *E. coli* foram testadas com os anti-soros polivalentes de *E. coli* da gastroenterite infantil (G.E.I.); as cepas soroaglutinantes foram encaminhadas à Seção de Bacteriologia Médica da Divisão de Biologia Médica do Instituto Adolfo Lutz para testes específicos;
- g) usando-se a técnica do NMP (série de 3 tubos), foi realizada a pesquisa para enterococos: 1,0 ml de cada diluição foi semeado em 3 tubos de caldo dextrose-azida, que foram incubados a $36 \pm 1^\circ\text{C}/24-48\text{ h}$; o material dos tubos positivos — turvação e viragem do in-

dicador — foi confirmado em caldo EVA (Ethyl-violet-azide) a $36 \pm 1^\circ\text{C}/24\text{ h}$, em BHI (Brain Heart Infusion) com 6% de NaCl a $36 \pm 1^\circ\text{C}/24\text{ h}$ e em BHI simples incubado a $45^\circ\text{C}/24\text{ h}$.

Exame parasitológico

- a) As folhas separadas das hortaliças foram lavadas em mais ou menos 250 ml de água filtrada;
- b) a água recolhida, após a lavagem em cristalizador, foi filtrada em gaze e transferida para copo cônico e deixada sedimentar por 24 h;
- c) após decantação, uma gota do sedimento foi transferida para lâmina limpa, acrescentando-se uma gota de lugol;
- d) após cobrir com lamínula, a preparação foi examinada em microscópio composto, com objetivas de 10 e 40 vezes de aumento.

TABELA 1

Resultados do exame bacteriológico, para determinação de *Escherichia coli*, *Enterococos* e *Salmonella*, de cada qualidade de verdura analisada

Hortaliças	<i>Escherichia coli</i>			Enterococos			<i>Salmonella</i>		
	Amostras analisadas	Amostras positivas		Amostras analisadas	Amostras positivas		Amostras analisadas	Amostras positivas	
	n.º	n.º	%	n.º	n.º	%	n.º	n.º	%
Alface	41	22	53,64	9	9	100	41	0	0
Escarola	35	27	77,14	9	9	100	35	0	0
Rúcula	26	23	88,46	9	9	100	26	0	0
Agrião	23	21	91,30	9	9	100	23	0	0
Total	125	93	74,40	36	9	100	125	0	0

TABELA 2

Resultados do exame microscópico, para ovos e larvas de *Strongyloides* e *ancilostomídeos*, de cada qualidade de verdura analisada

Hortaliças	Determinações microscópicas					
	<i>Strongyloides</i>			Ancilostomídeos		
	Amostras analisadas	Amostras positivas		Amostras analisadas	Amostras positivas	
n.º	n.º	%	n.º	n.º	%	
Alface	34	0	0	34	11	32,35
Escarola	30	2	6,66	30	16	53,33
Rúcula	26	3	11,53	26	23	84,61
Agrião	23	1	4,34	23	18	78,26
Total	113	6	5,30	113	67	59,29

TABELA 3

Distribuição geográfica das amostras positivas e negativas para *Escherichia coli*

Região \ Amostras	Alface		Escarola		Rúcula		Agião		Total	
	Positivas	Negativas	Positivas	Negativas	Positivas	Negativas	Positivas	Negativas	Positivas	Negativas
Mogi das Cruzes	8	3	10*	0	7	0	1	0	26	3
Suzano	2	5	6	1	4	0	7	1	19	7
Embú	0	1	5	0	2	2	4	1	11	4
Ibiúna	5*	0	3	0	4*	0	0	0	12	0
Itapecerica da Serra	2	1	1	2	1	1	0	0	4	4
Biritiba Mirim	0	4	0	4	0	0	0	0	0	8
Cotia	1	2	0	0	2	0	1	0	4	2
Arujá	1	1	0	0	1	0	2	0	4	1
Salesópolis	0	2	0	1	0	0	0	0	0	3
Itaquaquecetuba	0	0	0	0	1	0	2	0	3	0
Ribeirão Pires	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0
Diadema	1	0	1	0	0	0	0	0	2	0
Santo Amaro	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
Eldorado	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Mauá	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Embú-Guaçu	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Jundiaí	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Total	22	19	27	8	23	3	21	2	93	32

* Presença de *E. coli* G.E.I.

CELLI, D. S.; TACHIBANA, T.; OLIVEIRA, I. R.; ZAMBONI, C. Q.; PACHECO, J. A. & SPITERI, N.
 — Condições higiênicas-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de São Paulo, SP, Brasil.
 Rev. Inst. Adolfo Lutz, 39 (1):37-43, 1979.

TABELA 4

Resultado dos exames para presença de *Escherichia coli* e/ou enterococos

Hortaliças	Exames positivos para enterococos		
	Positivos para <i>E. coli</i>	Negativos para <i>E. coli</i>	Total de amostras analisadas
Alface	7	2	9
Escarola	8	1	9
Rúcula	9	0	9
Agrião	9	0	9

RESULTADOS

O número e tipos de hortaliças analisadas para as determinações bacterianas e parasitológicas, assim como os resultados obtidos, estão relacionados nas tabelas 1 e 2. A correlação entre presença de *E. coli* e áreas geográficas de onde procederam as amostras de cada qualidade de hortaliça está expressa na tabela 3. Na tabela 4, constam os resultados obtidos da análise de 36 amostras para as determinações simultâneas de *E. coli* e de enterococos.

Foram isoladas cepas de *E. coli* G.E.I. em 5 amostras analisadas, a saber: uma amostra de alface (*E. coli* 0119:B₁₁), 3 de escarola (2 *E. coli* 0127:B₈ e 1 *E. coli* 026:B₆) e uma amostra de rúcula (*E. coli* 0119:B₁₁).

DISCUSSÃO E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Os resultados das tabelas 1 e 2 indicam que a contaminação fecal foi freqüente. Não há áreas geográficas horticuloras que se apresentem com predominância de contaminação fecal, conforme a tabela 3, apesar de o número de amostras procedentes de cada região não permitir análise estatística significativa.

É interessante notar que, independentemente da procedência, a prevalência de contaminantes fecais se relaciona diretamente com o tipo de hortaliça analisada: a alface, pelos resultados obtidos e considerando-se o parâmetro indicativo da *E. coli*, encontra-se menos contaminada do que o agrião. Este resultado pode ser associado com as características próprias da alface — apesar das interferências da tecnologia e cultivo, transporte e manuseio não adequados — folhas largas, firmemente justapostas, que não permitem a fixação e o contato prolongado com os resíduos do solo e da água de irrigação e de lavagem; o agrião, por outro lado, se apresenta com folhas múltiplas e separadas, com área de contato maior, permitindo a fixação desses resíduos; a escarola e a rúcula apresentam características físicas intermediárias.

A tabela 4 demonstra que a prevalência de enterococos é maior que a de *E. coli*, nas amostras analisadas. Conforme trabalhos publicados, espera-se que o enterococo seja mais freqüente porque permanece por períodos mais longos no solo e na água do que a *E. coli*^{3, 5, 10, 11, 12}. Se considerarmos o parâmetro de enterococo como índice de presença de contaminação fecal, concluímos que esta presença é absoluta. É importante salientar que, pelos trabalhos já citados, o enterococo é considerado índice de contaminação passada, enquanto que a *E. coli* se relaciona com ocorrência recente de poluição fecal, e que os microrganismos indicadores, assim como os patogênicos entéricos, podem apresentar variação no seu padrão de resistência aos fatores ambientais, permanecendo por períodos mais ou menos longos no solo e na água^{7, 11, 13, 17, 18}.

No presente trabalho, o não isolamento de Salmonelas, a despeito da presença de outros microrganismos fecais, inclusive a *E. coli* G.E.I., pode ser explicado pela presença de antagonistas que não permitiram sua sobrevivência no solo, ou pelas limitações da técnica usada para o isolamento.

Os dados de pesquisa de helmintos são indicativos da presença de outra classe de contaminantes, os parasitas intestinais do homem, para os quais o consumo de verduras cruas pode ter significado epidemiológico. Entretanto, como já assinalamos, nessas verduras como no solo podem existir ovos e larvas de parasitas animais semelhantes aos parasitas humanos. Há limitações de técnica que poderiam ser contornadas se a cultura desses organismos fosse fácil e exequível. Porém, mesmo se considerarmos que todos os helmintos encontrados são parasitas humanos, pelos resultados obtidos os índices de *E. coli* e de enterococos são parâmetros de escolha para a avaliação da ocorrência de outros contaminantes fecais.

As sementeiras das diluições seriadas para a pesquisa de *E. coli* e de enterococos tiveram por finalidade quantificar esses microrganismos nas amostras analisadas. Entretanto, os dados obtidos não foram relacionados porque

consideramos que o número de amostras analisadas para a presença de enterococos foi pequeno e que seriam necessárias diluições maiores pois, via de regra, as utilizadas foram insuficientes para essa quantificação.

A observação de TAMMINGA *et alii*²⁰ de que os resultados obtidos por diferentes pesquisadores nem sempre podem ser comparados, devido a diferença do material analisado e da metodologia usada, é válida^{2, 4}. Porém, consideramos que os resultados de cada um dos trabalhos, respeitando-se a metodologia, o material, a época e a região, não podem ser invalidados.

Em vista do exposto sugerimos que sejam realizadas pesquisas correlatas ao presente trabalho para a elucidação das condições microbiológicas das verduras e frutas consumidas cruas, em relação à Saúde Pública para.

num esforço conjunto dos órgãos oficiais responsáveis, melhorarmos as condições de horticultura das mesmas. Além disso, é necessário que sejam definidos objetivamente os parâmetros microbiológicos para a elaboração de padrões, dentro da legislação, que determinem a qualidade dessa classe de alimentos.

Agradecimentos

Agradecemos às biólogas Harumi Sakuma, da Seção de Microbiologia Alimentar e Helena Ide Alves, da Seção de Microscopia Alimentar pela colaboração técnica, ao Sr. José Augusto Marchi, pela colheita de amostras e à estagiária Maria Alice da Silva Telles, pela colaboração prestada no levantamento bibliográfico deste trabalho.

RIALA6/472

GELLI, D. S.; TACHIBANA, T.; OLIVEIRA, I. R.; ZAMBONI, C. Q.; PACHECO, J. A. & SPITERI, N. — Bacterias in vegetables sold in the city of São Paulo, SP, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):37-43, 1979.

SUMMARY: Bacteriological examination was made of 125 samples of four vegetables grown in 18 localities of the state of São Paulo which were collected in public markets of the city of São Paulo. *Escherichia coli* was isolated from 74% of all samples. The germ was found in 54% of the 41 lettuce samples; in 77% of 35 samples of chickory, 89% of 26 samples of "rucula" (*Brassica* sp.) and in 91% of water cress. *E. coli* serotypes responsible for infantile gastroenteritis were found in 5 samples while no *Salmonella* sp. was found. Enterococci were disclosed in all 9 samples from each vegetable which were selected. Ancylostoma-like eggs and/or larvae were disclosed in 67 of 113 samples examined for parasites while 6 samples yielded *Strongyloides* sp.

DESCRIPTORS: vegetables, microbial contaminants determination; vegetables, parasite contaminants determination.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARBOSA, M. T. — Contaminação da alface consumida em Salvador, por coliformes fecais. *Bol. Inst. biol. Bahia*, 12:32-6, 1973.
2. CHRISTOVÃO, D. A. — Contaminação da alface (*Lactuca sativa*) por microrganismos de origem fecal: estudo de métodos bacteriológicos para sua determinação, medida de sua intensidade na cidade de São Paulo e eficiência de alguns tratamentos na sua redução. São Paulo, 1958. [Tese Cátedr. — Fac. Higiene e Saúde Pública, USP].
3. DEIBEL, R. H. & HARTMAN, P. A. — The enterococci. In: APHA Intersociety/Agency Committee on Microbiological Methods for Foods. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington, D. C., c1976. p. 370-3.
4. ERCOLANI, G. L. — Bacteriological quality assessment of fresh marketed lettuce and fennel. *Appl. environ. Microbiol.*, 31:847-52, 1976.
5. FISHBEIN, M.; MEHLMAN, I. J.; CHUGG, L. & OLSON, JR., J. C. — Coliforms, fecal coliforms, *E. coli*, and enteropathogenic *E. coli*. In APHA Intersociety/Agency Committee on Microbiological Methods for Foods. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington, D. C., c1976. p. 277-300.

6. FOWLER, J. L. & FOSTER, J. F. — A microbiological survey of three fresh green salads — can guidelines be recommended for these foods? *J. Milk Food Technol.*, 39:111-3, 1976.
7. GELDREICH, E. E. & BORDNER, R. H. — Fecal contamination of fruits and vegetables during cultivation and processing for market. A review. *J. Milk Food Technol.*, 34:184-95, 1971.
8. GUÉLIN, A. & LAMBLIN, D. — Quelques remarques sur la presence des antagonistes du bacille typhique a la surface de denrées alimentaires. *Annls Inst. Pasteur Lille.*, 17: 233-37, 1966.
9. GUÉLIN, A. & LAMBLIN, D. — Sur le pouvoir bactéricide des eaux. *Bull. Acad. natn. Méd.*, 150:526-32, 1966.
10. HEALY, G. R.; JACKSON, G. J.; LICHTENFELS, J. R.; HOFFMAN, G. L. & CHENG, T. C. — Foodborne parasites. In APHA Intersociety/Agency Committee on Microbiological Methods for Foods. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington, D. C., 1976, p. 471-83.
11. KÄFERSTEIN, F. K. — The microflora of Parsley. *J. Milk Food Technol.*, 39:837-40, 1976.
12. KOFOID, C. A.; KORNHAUSER, S. I. & PLATE, J. T. — Intestinal parasites in overseas and home service troops of the U. S. Army. *J. Am. med. Ass.*, 72:1721-24, 1919.
13. MASTRANDREA, G.; ALEMANNI, A. & ILARDI, I. — La contaminazione parasitaria del suolo nel comune di fondi. *Archo. ital. Sci. med. trop. Parassit.*, 48:161-9, 1967.
14. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD — Aspectos microbiológicos de la higiene de los alimentos. Informe de un comité de expertos de la OMS reunido con participación de la FAO. Ginebra, 1976. [Ser. inform. tecn. n.º 598].
15. PESSÓA, G. V. A. & SILVA, E. A. M. — Meios de Rugai e lisina-motilidade combinados em um só tubo para a identificação presuntiva de enterobactérias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 32:97-100, 1972.
16. RODRÍGUEZ-REBOLLO, M. — Coliformes y *Escherichia coli* en frutas y verduras de mercado. *Microbiologia esp.*, 27:225-34, 1974.
17. SOCIETY OF WATER TREATMENT AND EXAMINATION — *Water treatment and examination*. London, Churchill, 1970. p. 206-22.
18. Ibid. p. 231-4.
19. SOUTO, A. B. & CORRÊA, M. O. A. — Investigações microbiológicas e microscópicas sobre vegetais frescos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 5:342-52, 1945.
20. TAMMINGA, S. K.; BEUMER, R. R. & KAMPELMACHER, E. H. — The hygienic quality of vegetables in or imported into the Netherlands: a tentative survey. *J. Hyg., Camb.*, 80:143-54, 1978.
21. VELAUDAPILLAI, T.; NILES, G. R. & NAGARATNAM, W. — Salmonellas, shigellas and enteropathogenic *Escherichia coli* in uncooked food. *J. Hyg., Camb.*, 67:187-91. 1969.
22. WRIGHT, C.; KOMINOS, S. D. & YEE, R. B. — *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa* recovered from vegetable salads. *Appl. envir. Microbiol.*, 31:453-4, 1976.

Recebido para publicação em 7 de julho de 1978.

FLUTUAÇÃO MENSAL NA DENSIDADE DE POPULAÇÕES MALACOLÓGICAS EM CRIADOURO NATURAL DO MUNICÍPIO DE LONDRINA, ESTADO DO PARANÁ, BRASIL *

Pedro Paulo CHIEFFI **
Itagiba G. MORETTI ***

RIALA6/473

CHIEFFI, P.P. & MORETTI, I.G. — Flutuação mensal na densidade de populações malacológicas em criadouro natural do município de Londrina, Estado do Paraná, Brasil, *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):45-50, 1979.

RESUMO: Durante o período de um ano, estudou-se a flutuação mensal na densidade de populações de planorbídeos (*Biomphalaria tenagophila* e *B. glabrata*) e de outros moluscos (*Pomacea* sp. e *Physa* sp.), em criadouro natural localizado no município de Londrina. Os resultados revelaram tendência semelhante na flutuação da densidade populacional de *B. tenagophila* e *Pomacea* sp., que foram as espécies predominantes. As populações malacológicas apresentaram-se mais abundantes nos períodos compreendidos pelos meses de janeiro a março e de outubro a dezembro, ocasião em que se verificaram elevadas temperaturas ambientes e médias pluviométricas. Os dados obtidos sugerem ausência de relação competitiva entre as populações de *B. tenagophila* e *Pomacea* sp., nas condições prevalentes neste estudo.

DESCRITORES: moluscos, densidade populacional; *Biomphalaria tenagophila*; *Biomphalaria glabrata*; *Pomacea* sp.; *Schistosoma mansoni*; planorbídeos, *Biomphalaria tenagophila*, *Biomphalaria glabrata*.

INTRODUÇÃO

O estudo da dinâmica de populações malacológicas em criadouros naturais, revelando os padrões de variação na composição destas populações e as relações entre as diversas espécies existentes no mesmo ambiente, é de grande utilidade para a compreensão adequada do ecossistema da esquistossomose mansônica. A determinação dos fatores mesológicos e bióticos que influem na estabilidade de uma colônia de planorbídeos é aspecto que tem despertado a atenção de inúmeros pesquisadores ^{1 6 8 7 10 11 13 14 15 16}.

Além de interesse puramente biológico, estes trabalhos apresentam importância prática,

possibilitando abordagem mais racional da epidemiologia da esquistossomose mansônica, ao indicar as influências cíclicas e variações a que estão submetidas as populações malacológicas e, em especial, colônias de planorbídeos.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no reservatório de empresa hidroelétrica, antigamente responsável por fornecimento de energia elétrica ao município de Londrina e em abandono há longo tempo. O reservatório é formado pelo represamento de dois riachos de caráter per-

* Realizado no Departamento de Patologia Geral da Universidade Estadual de Londrina, Paraná. Apresentado no 14.º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical e no 3.º Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, João Pessoa, 1978.

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

*** Da Universidade Estadual de Londrina, PR.

manente, com fluxo variável que chega a ser rápido e caudaloso, durante o período de chuvas mais intensas.

A represa possui forma alongada, com cerca de 400 metros em seu maior eixo e 100 metros no menor; o perímetro é de aproximadamente 1.200 metros. A água apresenta correnteza moderada e sofre discreta poluição por resíduos de esgotos domésticos de algumas casas localizadas nas redondezas de suas margens.

Encontra-se abundante vegetação margeando a represa e, em diversos pontos, formam-se remansos onde o fluxo das águas é mais lento, constituindo-se em criadouros apropriados para colônias de planorbídeos.

Em várias capturas realizadas preliminarmente ao início desta pesquisa, encontraram-se exemplares de planorbídeos (*Biomphalaria tenagophila*), *Pomacea* sp. e *Physa* sp., distribuídos continuamente junto às margens da represa, bem como em diversos pontos dos riachos que lhe dão origem.

Para a realização do presente trabalho, estipularam-se dois locais fixos de captura, situados em margens opostas da represa. Mensalmente, efetuaram-se coletas através de conchadas sucessivas, durante 15 minutos, em cada local. Qualquer molusco capturado era transferido para frasco apropriado e transportado ao laboratório. O resultado final, com o objetivo de avaliar variações mensais na densidade das populações malacológicas, representa a soma dos moluscos coletados em ambos os pontos de captura.

No laboratório, os moluscos eram classificados sob o ponto de vista sistemático e contados. No caso de planorbídeos, pesquisou-se também a presença de infecção por *Schistosoma mansoni* e outros trematódeos. Para tanto, os planorbídeos eram separados em lotes

de 10 e colocados, com um pouco de água de poço artesiano, em placas de Petri que ficavam expostas à luz artificial durante seis horas.

Após a pesquisa de infecção por trematódeos, os planorbídeos eram classificados, segundo o diâmetro da concha, em quatro grupos: 0 a 4 mm, 5 a 9 mm, 10 a 14 mm e acima de 15 mm, visando avaliar sua idade.

Os dados referentes à temperatura ambiente e precipitação pluvial foram fornecidos por observatório meteorológico, mantido no município de Londrina pela Força Aérea Brasileira.

RESULTADOS

1. Variação mensal das populações de moluscos

Durante o ano de 1974, coletaram-se quatro espécies de moluscos no criadouro em observação: *Biomphalaria tenagophila*, *B. glabrata*, *Pomacea* sp. e *Physa* sp. Exceptuando *B. glabrata* que somente foi encontrada, em pequena quantidade, nos meses de janeiro e fevereiro, as demais espécies estavam sempre presentes, variando o número de exemplares coletados, conforme indica a tabela.

A figura 1 mostra as curvas de variação nas densidades populacionais de *B. tenagophila* e *Pomacea* sp. — que foram, em todos os meses, os moluscos coletados em maior quantidade — relacionando-as com as oscilações verificadas na temperatura média e na pluviosidade.

Na figura 2 pode-se observar o padrão de variação que ocorreu na população de *B. tenagophila*, considerando as várias classes de diâmetros em que foram classificados os planorbídeos capturados, com o objetivo de avaliar sua idade.

Variação mensal de populações malacológicas, conforme gênero e/ou espécie de moluscos capturados em criadouro natural, no município de Londrina, PR, 1974

Mês	Número de exemplares			
	<i>Biomphalaria tenagophila</i>	<i>Biomphalaria glabrata</i>	<i>Pomacea</i> sp.	<i>Physa</i> sp.
Janeiro	278	3	16	5
Fevereiro	292	2	10	2
Março	248	0	8	6
Abril	145	0	6	4
Maio	134	0	8	7
Junho	94	0	5	0
Julho	76	0	7	2
Agosto	68	0	10	3
Setembro	130	0	19	2
Outubro	168	0	22	5
Novembro	196	0	24	6
Dezembro	261	0	25	9

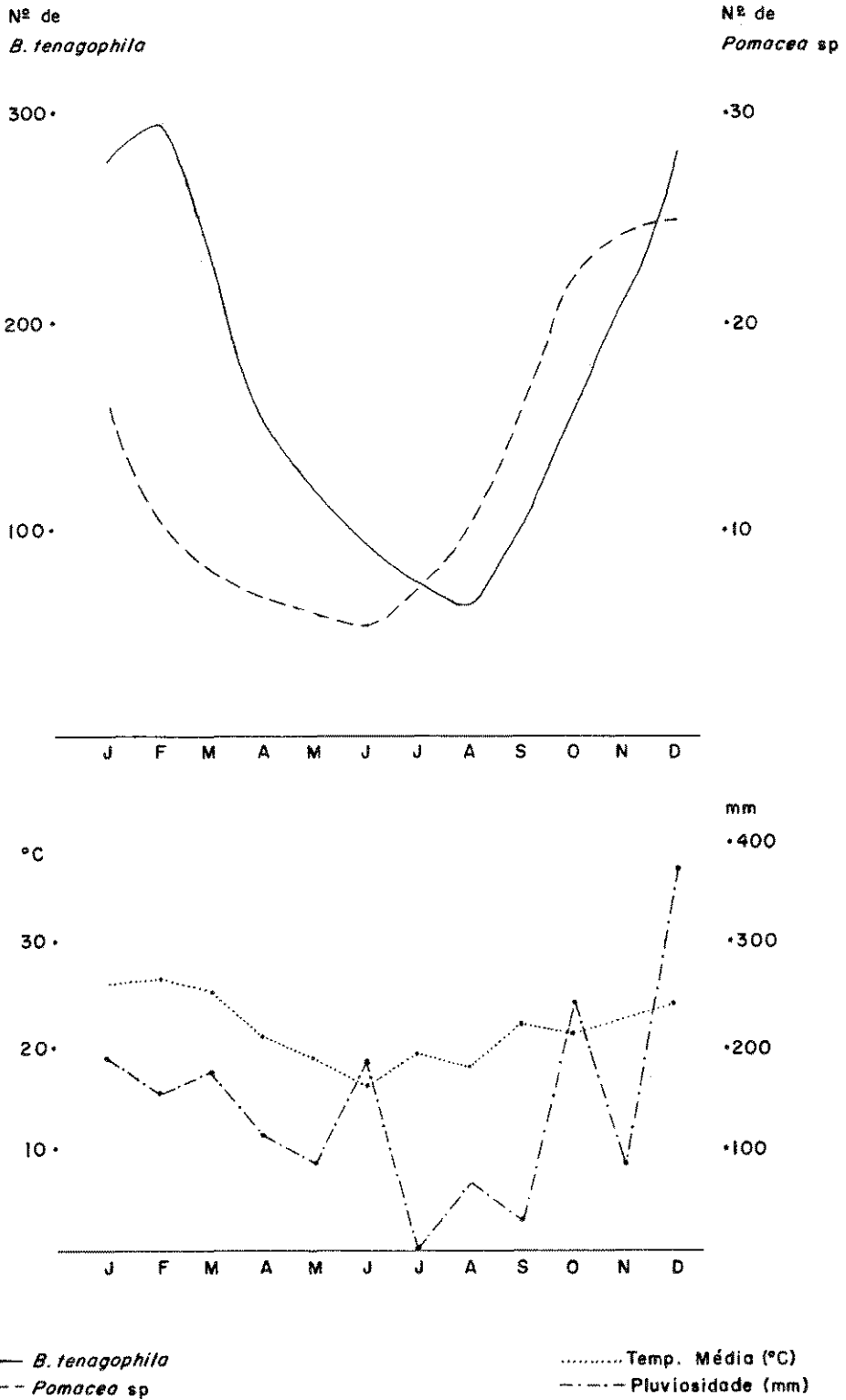


Fig. 1 — Variação mensal de populações de *Biomphalaria tenagophila* e *Pomacea* sp. capturadas em criadouro natural no município de Londrina, conforme temperatura média e pluviosidade, em 1974.

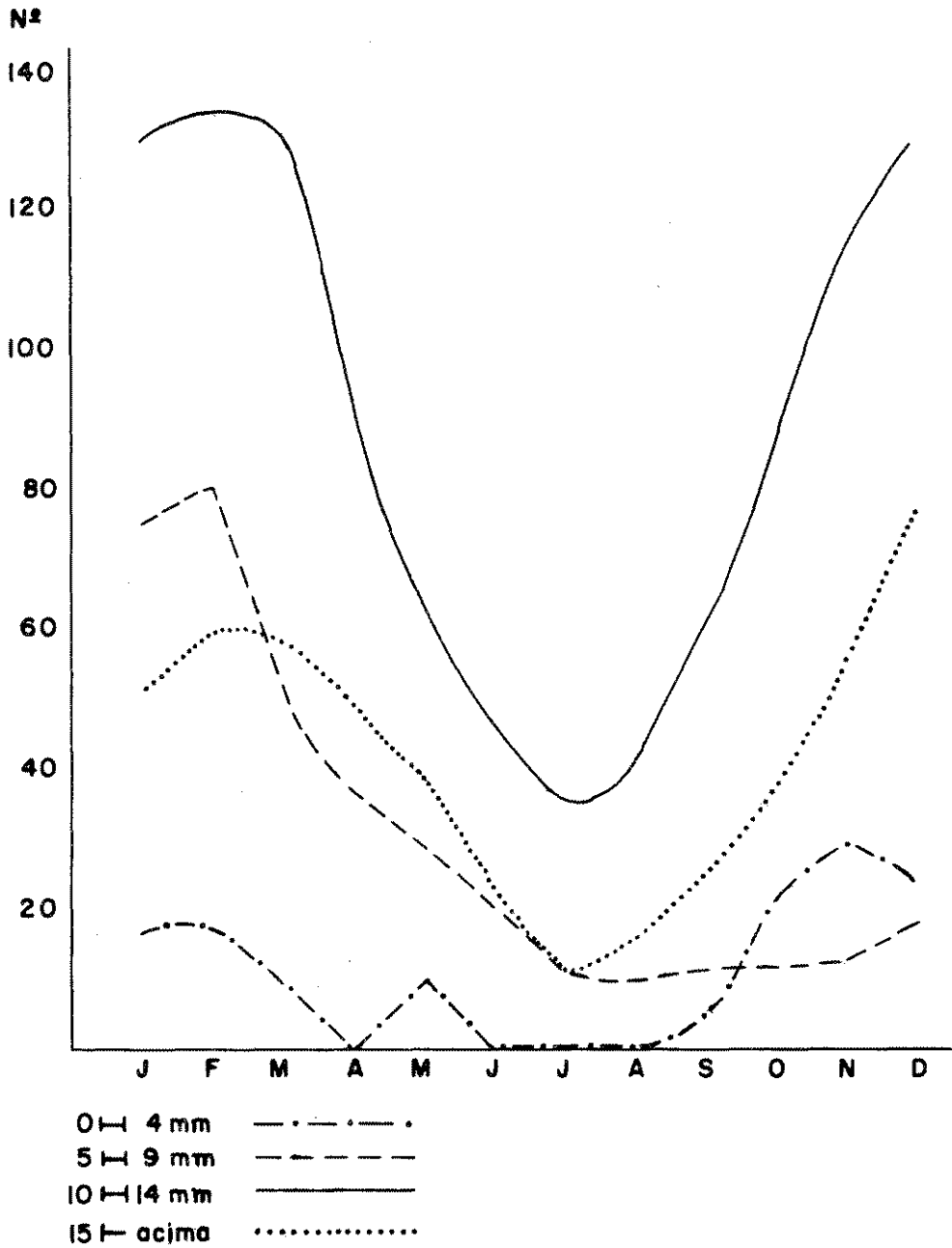


Fig. 2 — Variação mensal no diâmetro da concha de exemplares de *Biomphalaria tenagophila* capturados em criadouro natural no município de Londrina, em 1974.

2. Taxa de infecção de planorbídeos por larvas de trematódeos

Apenas em duas ocasiões, nos meses de janeiro e março, encontraram-se exemplares de *B. tenagophila* que no laboratório, após exposição à luz, eliminaram cercárias. As taxas de infecção foram baixas, 1,08% em janeiro e 0,80% em março; tratava-se de cercárias cuja causa não apresentava bifurcação. Em nenhuma ocasião ocorreu eliminação de cercárias de *S. mansoni*.

DISCUSSÃO

Diversos pesquisadores, ao estudar as flutuações observadas na densidade de populações de planorbídeos, relacionam este fenômeno a fatores climáticos, especialmente o regime de chuvas e a temperatura.

STURROCK¹⁰ acredita que diversos fatores ambientais e biológicos como as variações de temperatura, quantidade de alimento disponível, existência de competição e predação por outras espécies exercem influência na dinâmica de populações de planorbídeos. Contudo, estes fatores teriam importância secundária quando comparados com o regime pluvial.

Entretanto, o efeito das chuvas sobre os criadouros e, em particular, sobre a população de caramujos varia conforme o tipo de criadouro e o clima da região¹. Assim, no Nordeste brasileiro é comum encontrarem-se populações malacológicas mais abundantes, durante ou logo após o período de chuvas mais intensas nas coleções de água cujo volume diminui sensivelmente no período de estiagem^{13, 14}, já nos criadouros, onde o nível de água varia pouco durante todo o ano, as flutuações na densidade populacional de planorbídeos, embora presentes, são menos intensas².

PARAENSE & SANTOS¹¹, trabalhando no interior de Minas Gerais, encontraram resultados opostos: a densidade populacional de uma colônia de *B. glabrata* foi maior no período de menor precipitação atmosférica. Acreditam estes autores que chuvas torrenciais podem determinar intensas perturbações no equilíbrio de um ecossistema do tipo lentic, predominante em lagoas, alterando as condições favoráveis para os moluscos.

No presente trabalho foi *B. tenagophila* a única espécie de planorbídeo encontrada permanentemente no criadouro observado. Apenas em duas ocasiões, nos meses de janeiro e fevereiro, coletaram-se poucos exemplares de *B. glabrata*. Contudo, nestas ocasiões e mesmo em meses subsequentes, encontraram-se conchas vazias, morfologicamente semelhantes às de *B. glabrata*. Não existem dados anteriores que permitam avaliar se a presença de alguns exemplares, vivos e mortos, de *B. glabrata* neste criadouro foi um achado ocasional ou se o desaparecimento desta espécie deveu-se a deslocamento competitivo, em virtude da presença de outra espécie de planorbídeo (*B. tenagophila*), que predominava na ocasião em

que se realizaram as coletas. Evidências de relações competitivas entre espécies diferentes de planorbídeos, em um mesmo criadouro, já foram relatadas por BARBOSA¹. É interessante assinalar que, em condições experimentais e em ambientes isolados, quando se comparou o potencial reprodutivo de *B. glabrata* e *B. tenagophila* originárias da mesma área, obteve-se resultado expressivamente mais favorável para a primeira espécie⁵.

Analisando os dados da tabela e da figura 1, conclui-se que a população de *B. tenagophila*, assim como a de *Pomacea* sp. e, de certa maneira, também a de *Physa* sp. apresentaram padrão semelhante de flutuação, escasseando nos meses em que diminuíram a pluviosidade e a temperatura do meio e apresentando-se em maior quantidade nos períodos compreendidos pelos meses de janeiro a março e outubro a dezembro, quando ocorreu elevação da temperatura e pluviosidade. É provável, neste caso, que a influência das chuvas seja mais importante do que a de temperatura, fazendo com que ocorresse o carreamento passivo de exemplares de moluscos existentes nos riachos que formam o criadouro em estudo, com acúmulo junto às suas margens.

Os dados contidos na figura 2 reforçam a hipótese acima enunciada: praticamente desapareceram os planorbídeos de menor diâmetro (0 a 4 mm) no período de seca. Embora seja válido supor ser este um período desfavorável à reprodução, é mais provável que, ao decrescer o aporte passivo de caramujos dos riachos para a represa, em virtude da diminuição de vazão, os caramujos de menor diâmetro permaneçam menos vulneráveis à ação de arrastamento da correnteza. Deve-se notar, contudo, que, mesmo nos períodos em que rarearam as chuvas e diminuiu a temperatura, quantidades consideráveis de moluscos foram capturadas na represa.

É importante destacar que as espécies predominantes de moluscos — *B. tenagophila* e *Pomacea* sp. — apresentaram nitidamente um padrão comparável na flutuação de sua densidade populacional (fig. 1). Embora a literatura especializada assinale diversas referências sobre a existência de relação competitiva entre ampulárideos e planorbídeos, quer em laboratório, como em criadouros naturais^{1, 10, 12}, este fenômeno parece não ocorrer nas condições prevalentes no presente trabalho. É possível que a amplitude do criadouro, dificultando competição por substrato alimentar ou a predação de desovas de planorbídeos por exemplares adultos de *Pomacea* sp., possa explicar a ausência de relação competitiva entre as duas espécies. É, portanto, de grande valia o estudo mais aprofundado das relações entre as espécies mais comuns de moluscos existentes nos criadouros de água doce, para conhecimento adequado de todas as possíveis interações no ecossistema de transmissão da esquistossomose mansônica e, desta forma, poder atuar convenientemente no controle desta endemia.

CHIEFFI, P.P. & MORETTI, I.G. — Monthly variation of mollusc populations in a natural pond of Londrina country, state of Paraná, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):45-50, 1979.

SUMMARY: The presence of *Planorbidae* molluscs was measured in a natural pond of Londrina country, state of Paraná, Brazil. The predominant species were *Biomphalaria tenagophila* and *Pomacea* sp. which showed a similar variation. The higher frequencies were observed from January to March and from October to December. These periods were characterized by high mean temperatures and rainfall. No evidence was found which suggested competition between *Biomphalaria tenagophila* and *Pomacea* sp.

DESCRIPTORS: molluscs, populational density; *Biomphalaria tenagophila*; *Biomphalaria glabrata*; *Pomacea* sp.; *Schistosoma mansoni*; planorbids, *Biomphalaria tenagophila*, *Biomphalaria glabrata*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, R.M. — Notes on laboratory and field observations regarding planorbids' competitors and predators: protozoans, crustaceans and mullusks. *Rev. bras. Malar. Doeng. trop.*, 23:193-4, 1971.
- BARBOSA, F.S. — Aspects of the ecology of the intermediate hosts of *Schistosoma mansoni* interfering with the transmission of bilharziasis in North-Eastern Brazil. In: SYMPOSIUM [on] BILHARZIASIS, Cairo, 1962. Bilharziasis; edited by G.E.W. & M. O'Connor, London, Churchill, 1962. p. 23-35. [Ciba Foundation Symposia]
- BARBOSA, F.S. — Possible competitive displacement and evidence of hybridization between two Brazilian species of planorbid snails. *Malacologia*, 14:401-8, 1973.
- BERRIE, A.D. — Snail problems in African schistosomiasis. *Adv. Parasitol.*, 8:43-96, 1970.
- CHIEFFI, P.P.; MORETTI, I.G. & TORNERO, M.T.T. — Potencial reprodutivo, em condições de laboratório, de *Biomphalaria glabrata* Say (1818) e de *Biomphalaria tenagophila* D'Orbigny (1835), originárias do município de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 37:65-70, 1977.
- CRIDLAND, C.C. — Ecological factors affecting the number of snails in temporary bodies of water. *J. trop. Med. Hyg.*, 60:287-93, 1957.
- CRIDLAND, C.C. — Ecological factors affecting the number of snails in a permanent stream. *J. trop. Med. Hyg.*, 61:16-20, 1958.
- JOBIN, W.R. — Population dynamics of aquatic snails in three farm ponds of Puerto Rico. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 19:1038-48, 1970.
- MATTHIESEN, F.A. — *Pomacea lineata* (Spix, 1827) (Mollusca, Prosobranchia) e o combate a planorbídeos. *Cienc. Cult.*, 28:777, 1976.
- OLIVER-GONZALEZ, J.; BAUMAN, P.M. & BENENSON, A.S. — Effect of the snail *Marisa cornuarietis* on *Australorbis glabratus* in natural bodies of water in Puerto Rico. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 5:290-6, 1956.
- PARAENSE, W.L. & SANTOS, J.M. — Um ano de observações sobre esquistossomose em planorbídeos da Lagoa Santa. *Rev. bras. Malar. Doeng. trop.*, 5:253-69, 1953.
- PAULINYI, H.M. & PAULINI, E. — Observações de laboratório sobre o controle biológico de *Biomphalaria glabrata* pela *Pomacea* sp. (Ampulariidae). *Rev. bras. Malar. Doeng. trop.*, 23:135-49, 1971.
- PINOTTI, M.; REY, L.; ARAGÃO, M.B. & CUNHA, A.G. — Epidemiologia da esquistossomose e variação periódica das populações malacológicas em Pernambuco, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 2:183-8, 1960.
- REY, L. & PESSÓA, S.B. — Contribuição ao estudo dos focos de *Australorbis glabratus* (transmissor da esquistossomose mansônica) em Sergipe. *Rev. clin. S. Paulo*, 29:85-108, 1953.
- ROWAN, W.B. — Seasonal effect of heavy rains on the population density of *Australorbis glabratus* in a Puerto Rican watershed. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 8:570-4, 1959.
- STURROCK, R.F. — Field studies on the transmission of *Schistosoma mansoni* and the bionomics of its intermediate host, *Biomphalaria glabrata*, on St. Lucia, West Indies. *Int. J. Parasitol.*, 3:175-94, 1973.

Recebido para publicação em 7 de julho de 1978.

VERIFICAÇÃO QUALITATIVA DA ATIVIDADE ANTIMICÓTICA DO NITRATO DE MICONAZOL *

Helena Ide ALVES **

Walter ALVES **

Décio Bianco SALES **

RIALA6/474

ALVES, H. I.; ALVES, W. & SALES, D. B. — Verificação qualitativa da atividade antimicótica do nitrato de miconazol. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):51-53, 1979.

RESUMO: Foi verificada a ação antimicótica do nitrato de miconazol na forma de loção a 2%. Nesta loção, os excipientes usados foram polietileno glicol 300 e propileno glicol, em mistura em partes iguais, e inertes contra as espécies estudadas. As culturas iniciais de *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Tricophyton rubrum*, *Microsporium canis* e *Tricophyton violaceum* foram cultivadas em meio Sabouraud inclinado e desenvolveram após 5 dias à temperatura ambiente ($\pm 20^{\circ}\text{C}$). A técnica usada foi a da cultura das espécies em estudo em meio Sabouraud inclinado, contendo 1 ml da loção na superfície, ou seja, formando uma camada em toda a superfície do meio. Após 24 horas de contacto, as culturas assim tratadas foram repicadas para novos meios Sabouraud inclinados. Das espécies em estudo, não houve crescimento após o tratamento com 1 ml da loção, durante 24 horas, com exceção do *Tricophyton violaceum* que exigiu o dobro da dose, ou seja 2 ml da loção a 2%.

DESCRITORES: fungos, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Tricophyton rubrum*, *Tricophyton violaceum*, *Microsporium canis*; antimicótico, nitrato de miconazol; nitrato de miconazol, atividade antimicótica.

INTRODUÇÃO

Sendo o nitrato de miconazol insolúvel em solventes aquosos, não é possível a utilização dos métodos convencionais^{1,3,4}, para a verificação quantitativa de sua atividade antimicótica.

Este trabalho propõe um método de análise para demonstrar qualitativamente a ação antimicótica do nitrato de miconazol na forma de loção. Obviamente o método poderá ser empregado para outras substâncias insolúveis em solventes aquosos e para os quais um teste quantitativo da atividade antimicótica é impossível.

MATERIAL E MÉTODO

Material

Meio de cultura ágar-Sabouraud

Dextrose	40 g
Peptona	10 g
Ágar	15 g
Água destilada q.s.p.	1000 ml

Amostra

Loção de nitrato de miconazol a 2%, p/v, onde o excipiente era constituído de uma mis-

* Realizado na Seção de Controle de Esterilidade e Pirogênio do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

tura em partes iguais de polietileno glicol 300 e propileno glicol.

Espécie de fungos testadas

Candida albicans
Candida tropicalis
Microsporium canis
Trichophyton rubrum
Trichophyton violaceum

Método

Foi utilizada a técnica da semeadura em tubos de ensaio contendo o meio de cultura ágar-Sabouraud inclinado², onde todas as espécies de fungos citados foram inoculadas em triplicata e incubadas à temperatura ambiente. Após 5 dias, quando todas as espécies apresentaram crescimento, foi adicionado 1 ml da loção de nitrato de miconazol em dois dos três tubos e deixados em repouso por um período de 24 horas, à temperatura ambiente.

De cada um dos tubos, tratados com a loção, repicou-se para um novo meio ágar-Sabouraud inclinado. Os tubos restantes, que não foram tratados com a loção, assim como aqueles não repicados para o novo meio de cultura, foram reservados para observação macroscópica dos crescimentos e inibição pela loção.

RESULTADOS

Todos os tubos apresentaram crescimento de fungos no espaço de 5 dias, à temperatura ambiente, demonstrando a viabilidade do meio de cultura empregado. Não houve inibição de

crescimento quando todas as espécies foram inoculadas no meio de cultura contendo o excipiente da loção.

Dos tubos repicados, após tratamento com 1 ml da loção, nenhuma espécie apresentou crescimento após 20 dias, exceto o *Trichophyton violaceum* que apresentou crescimento após o 5.º dia. A ação fungicida desta espécie foi observada somente quando a concentração da loção foi duplicada.

Pela comparação dos dois tubos inoculados da triplicata, os tratados e os não tratados com amostras, comprovou-se a ação fungicida do nitrato de miconazol, após 20 dias de incubação à temperatura ambiente ($\pm 20^{\circ}\text{C}$).

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A loção de nitrato de miconazol a 2%, p/v, apresentou ação fungicida após um contacto de 24 horas com as culturas das espécies em estudo, exceto o *Trichophyton violaceum* que requereu o dobro da dose das demais espécies. O método empregado para a forma farmacêutica em exame, ou seja, a loção, poderá ser aplicado a outros tipos de amostras, tais como unguentos, pomadas etc., nas quais o princípio ativo não é miscível em solvente aquoso e, portanto, impossibilitado de ser submetido a um teste quantitativo.

Agradecimentos

Nossos agradecimentos aos Drs. Manuel Marinho e Y. Furukawa, pela cessão do princípio ativo usado e das culturas necessárias à feitura deste trabalho.

RIALA6/474

ALVES, H. I.; ALVES, W. & SALES, D. B. — Qualitative verification of the antimycotic activity of miconazol nitrate. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):51-53, 1979.

SUMMARY: A 2% solution of myconazol nitrate in equal parts of propylene glycol and polyethylene glycol was tested for antimycotic activity. *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *Trichophyton rubrum*, *T. violaceum* and *Microsporium canis* were grown, at room temperature, for 5 days, on Saboureaud agar slants. Then, 1 ml of the lotion was spread on the surface and left at room temperature for 24 hours. After this interval, the species were inoculated on new Saboureaud agar slants for 20 days, also at room temperature. No growth was then observed, except for *T. violaceum*. The latter needed 2 ml for showing no growth.

DESCRIPTORS: fungi, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton violaceum*, *Microsporium canis*; antimycotic drug, myconazol nitrate; myconazol nitrate, antimycotic activity.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. LAWRENCE, C. A. & BLOCK, S. S. — *Desinfection, sterilization and preservation*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1968. p. 207-216.
2. MOURA, R. A. A. *et alii* — *Técnicas de Laboratório*. Rio de Janeiro, Atheneu, 1977. p. 648-713.
3. REDISH, G. F., ed. — *Antiseptics, disinfectants, fungicides and chemical and physical sterilizations*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1954. p. 137, 139 e 548-561.
4. SYKES, G. — *Desinfection and sterilization*. 2nd ed. London, E. & F. N. Spon, 1965. p. 85-86.

Recebido para publicação em 31 de julho de 1978.

ESTABILIDADE DO β -CAROTENO EM MASSAS ALIMENTÍCIAS VITAMINADAS *

Myrna SABINO **

Emiko Ikejiri INOMATA **

Waldomiro PREGNOLATTO **

RIALA6/475

SABINO, M.; INOMATA, E. I. & PREGNOLATTO, W. — Estabilidade do β -caroteno em massas alimentícias vitaminadas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):55-59, 1979.

RESUMO: β -caroteno é utilizado em alimentos como corante e pró-vitamina A. A fim de verificar a influência dos processos usuais de cozimento no teor do β -caroteno, foram analisadas, pelo método espectrofotométrico, 100 amostras de massas alimentícias vitaminadas, sendo 50 de sêmola e 50 de massas com ovos. Os possíveis interferentes foram pesquisados por cromatografia em papel, ascendente. Os resultados obtidos mostraram uma perda média do β -caroteno de 74,0% para a massa vitaminada de sêmola e 37,0% para a massa vitaminada com ovos. Concluiu-se que a função predominante do β -caroteno, nestes produtos, é a de corante e não a de pró-vitamina A.

DESCRITORES: massas alimentícias vitaminadas, determinação do β -caroteno; β -caroteno, determinação em massas alimentícias vitaminadas.

INTRODUÇÃO

Os carotenóides, pigmentos derivados do isopreno, são encontrados em plantas, insetos, aves e em outros animais, proporcionando uma gama de tonalidades do amarelô ao vermelho^{7, 10}.

O nome "caroteno" foi dado ao pigmento amarelô da cenoura (*Daucus carota*), isolado pela primeira vez em 1831.

A maioria dos carotenóides são tetraterpenos, cuja estrutura se caracteriza por uma cadeia alifática com grupos metilos inseridos em um sistema de duplas ligações conjugadas, que é responsável pela cor vermelha ou amarela intensa de tais compostos¹.

Baseando-se nas condições estabelecidas para o grau de toxicidade dos corantes e nas especificações para identidade e pureza, a junta FAO/WHO Expert Committee on Food Additives aprovou o uso do β -caroteno; β -apo-8'-ca-

rotenal, éster etílico do β -apo-8' carotenal e cantaxantina, como corantes para alimentos⁵.

No Brasil, a Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos, através da resolução n.º 8/72, autorizou o uso do α , β , γ -caroteno, β -apo-8'carotenal, éster etílico do ácido β -apo-8'carotenóico como corantes alimentícios.

Os carotenóides são importantes do ponto de vista da nutrição humana e animal porque alguns deles se convertem em vitamina A, através de um sistema oxidativo presente na mucosa intestinal dos animais⁴. Os mais conhecidos precursores da vitamina A que se encontram na natureza são: α , β , neo- β -caroteno e criptoxantina. O mais ativo é o β -caroteno porque tem dois anéis β -ionônicos e é capaz de dividir-se em duas moléculas de vitamina A, ao passo que os demais só têm um anel ionônico³. A FAO/WHO convencionou que 1 μ g de β -caroteno equivale a 0,56 U.I. de vitamina A, ou 0,167 μ g de retinol⁶.

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

O regulamento sanitário da Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo, aprovado pelo decreto n.º 12.486 de 20/10/78 (NTA 82), permite a adição de pró-vitamina A a produtos alimentícios, na quantidade mínima equivalente a 200 U.I. de vitamina A/100 g, quando a aparência normal de um produto não puder sofrer pronunciada alteração de cor^a.

Os carotenóides na forma pura são sensíveis à luz, sofrendo degradação oxidativa; por isso, são utilizados os antioxidantes naturais, como o α -tocoferol e o ácido ascórbico que exercem um efeito protetor.

A valorização das propriedades vitamínicas desta classe de produtos, feita pela propaganda, exige uma melhor avaliação das reais vantagens da pró-vitamina A nas massas alimentícias.

MATERIAL E MÉTODO

Material

50 amostras de massas alimentícias vitaminadas de sêmola

50 amostras de massas alimentícias vitaminadas com ovos.

As amostras cruas utilizadas foram as colhidas no comércio e indústrias alimentícias pelo Serviço de Fiscalização da Divisão de Alimentação Pública que as remeteu ao Instituto Adolfo Lutz, para análise fiscal, e as enviadas pelos interessados para análise de orientação.

Reagentes

Éter de petróleo p.a. (p.e. 40-60°C)

Acetona p.a.

Eluente: acetona a 2% em éter de petróleo

Aparelho

Espectrofotômetro de absorção na região do visível e ultravioleta*.

Procedimento

a) *Cozimento da massa*: para a obtenção da massa cozida, seguimos o procedimento caseiro; cozinhamos de 20 a 30 g da amostra em 300 ml de água potável fervente, durante 20 minutos. Secamos na estufa (40-55°C) até peso constante.

b) *Técnica*: usamos a técnica descrita nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz^a para a dosagem do β -caroteno.

RESULTADOS E CONCLUSÃO

Os resultados obtidos figuram nas tabelas 1 e 2. Estas tabelas mostram que houve uma redução no teor do β -caroteno através do processo caseiro de cozimento. Na massa alimentícia vitaminada de sêmola, a perda mínima foi de 255,0 U.I./100 g (67,0%) e a máxima de 321,0 U.I./100 g (80,0%); na massa vitaminada com ovos, a perda mínima foi de 142,0 U.I./100 g (25%) e a máxima de 489,0 U.I./100 g (49,0%).

A perda média (37,0%) da massa vitaminada com ovos foi inferior à da massa vitaminada de sêmola (74,0%), talvez devido à presença de outros carotenóides naturais na gema, os quais são mais estáveis, quando aquecidos, do que os adicionados. Através do desvio padrão da porcentagem de perda do β -caroteno, que foi de 4,0 para a massa de sêmola e de 8,0 para a massa com ovos, verificamos uma correlação direta entre o teor de β -caroteno na massa crua e após o cozimento.

Os desvios obtidos para as massas cruas e cozidas foram maiores para as massas com ovos, devido à presença de carotenóides naturais cujo teor varia de acordo com a quantidade e qualidade dos ovos empregados.

Os resultados obtidos indicam que o β -caroteno adicionado é muito sensível ao aquecimento, ficando evidenciada a sua função predominante de corante nestes produtos alimentícios.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Dra. Walkyria H. Lara, Chefe da Seção de Aditivos do Instituto Adolfo Lutz, por idéias e sugestões recebidas durante a realização do trabalho.

* Varian, modelo 635.

TABELA 1

Variação do teor de β -caroteno na massa alimentícia vitaminada de sêmola, em função do cozimento

Amostra n.º	Teor de β -caroteno em vitamina A			
	Massa crua U.I./100 g	Massa cozida U.I./100 g	Perda	
			U.I./100 g	%
01	381,0	126,0	255,0	67,0
02	435,0	144,0	291,0	67,0
03	245,0	79,0	166,0	68,0
04	302,0	96,0	206,0	68,0
05	309,0	99,0	210,0	68,0
06	380,0	120,0	260,0	68,0
07	422,0	135,0	287,0	68,0
08	432,0	138,0	294,0	68,0
09	321,0	98,0	223,0	69,0
10	375,0	115,0	260,0	69,0
11	204,0	62,0	142,0	70,0
12	330,0	100,0	230,0	70,0
13	407,0	120,0	287,0	70,0
14	217,0	62,0	155,0	71,0
15	302,0	87,0	215,0	71,0
16	398,0	115,0	283,0	71,0
17	358,0	100,0	258,0	72,0
18	374,0	105,0	269,0	72,0
19	430,0	122,0	308,0	72,0
20	299,0	79,0	220,0	73,0
21	374,0	100,0	274,0	73,0
22	378,0	100,0	278,0	73,0
23	211,0	55,0	156,0	74,0
24	214,0	55,0	159,0	74,0
25	215,0	55,0	160,0	74,0
26	235,0	62,0	173,0	74,0
27	300,0	77,0	223,0	74,0
28	225,0	55,0	170,0	75,0
29	276,0	69,0	207,0	75,0
30	276,0	70,0	206,0	75,0
31	401,0	100,0	301,0	75,0
32	433,0	105,0	328,0	75,0
33	232,0	56,0	176,0	76,0
34	235,0	55,0	180,0	76,0
35	288,0	70,0	218,0	76,0
36	402,0	98,0	304,0	76,0
37	350,0	80,0	270,0	77,0
38	367,0	85,0	282,0	77,0
39	419,0	91,0	328,0	78,0
40	225,0	46,0	179,0	79,0
41	225,0	46,0	179,0	79,0
42	235,0	48,0	187,0	79,0
43	245,0	50,0	195,0	79,0
44	250,0	52,0	198,0	79,0
45	299,0	63,0	236,0	79,0
46	360,0	74,0	286,0	79,0
47	208,0	42,0	166,0	80,0
48	256,0	52,0	204,0	80,0
49	256,0	51,0	205,0	80,0
50	401,0	80,0	321,0	80,0
Média	314,0	83,0	231,0	74,0
Desvio padrão	76,0	28,0	52,0	4,0

TABELA 2

Varição do teor de β -caroteno na massa alimentícia vitaminada com ovos, em função do cozimento

Amostra n.º	Teor de β -caroteno em vitamina A			
	Massa crua U.I./100 g	Massa cozida U.I./100 g	Perda	
			U.I./100 g	%
01	559,0	417,0	142,0	25,0
02	559,0	417,0	142,0	25,0
03	827,0	616,0	211,0	25,0
04	1000,0	745,0	255,0	25,0
05	563,0	417,0	146,0	26,0
06	806,0	593,0	213,0	26,0
07	827,0	609,0	218,0	26,0
08	986,0	728,0	258,0	26,0
09	675,0	493,0	182,0	27,0
10	872,0	630,0	242,0	28,0
11	850,0	605,0	245,0	29,0
12	547,0	381,0	166,0	30,0
13	749,0	525,0	224,0	30,0
14	756,0	527,0	229,0	30,0
15	806,0	564,0	242,0	30,0
16	806,0	548,0	258,0	32,0
17	513,0	345,0	168,0	33,0
18	739,0	484,0	255,0	34,0
19	447,0	288,0	159,0	35,0
20	680,0	442,0	238,0	35,0
21	699,0	450,0	249,0	36,0
22	923,0	576,0	347,0	37,0
23	701,0	431,0	270,0	38,0
24	759,0	472,0	287,0	38,0
25	511,0	312,0	199,0	39,0
26	664,0	407,0	257,0	39,0
27	760,0	463,0	297,0	39,0
28	432,0	263,0	169,0	40,0
29	760,0	459,0	301,0	40,0
30	898,0	539,0	359,0	40,0
31	527,0	309,0	218,0	41,0
32	618,0	364,0	254,0	41,0
33	718,0	419,0	299,0	42,0
34	900,0	522,0	378,0	42,0
35	309,0	175,0	134,0	43,0
36	496,0	280,0	216,0	43,0
37	463,0	259,0	204,0	44,0
38	369,0	204,0	165,0	45,0
39	393,0	214,0	179,0	45,0
40	484,0	266,0	218,0	45,0
41	576,0	317,0	259,0	45,0
42	369,0	200,0	169,0	46,0
43	333,0	175,0	158,0	47,0
44	630,0	334,0	296,0	47,0
45	647,0	343,0	304,0	47,0
46	430,0	225,0	205,0	48,0
47	576,0	300,0	276,0	48,0
48	446,0	225,0	221,0	49,0
49	589,0	295,0	288,0	49,0
50	1002,0	513,0	489,0	49,0
Média	651,0	414,0	237,0	37,0
Desvio padrão	178,0	146,0	58,0	8,0

RIALA6/475

SABINO, M.; INOMATA, E. I. & PREGNOLATTO, W. — The stability of β -carotene in vitamin-enriched flour foods. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):55-59, 1979.

SUMMARY: A spectrophotometric method was employed for determining the β -carotene content of 100 vitamin-added samples of flour foods of which 50 samples were semolina foods and 50 samples of egg-added flour foods. Possible interfering substances were investigated by ascending paper chromatography. The results obtained indicated a loss of β -carotene due to boiling which amounted to 74% and 37% respectively, for the semolina mass and the "egg-added flour food". It is concluded that the main role of β -carotene in these products was to act as a dye rather than as pro-vitamin A.

DESCRIPTORS: flour foods, β -carotene determination; β -carotene in flour foods, determination.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAUERNFEIND, J. C. — Carotenoids as foods colors. *Food Technol.*, 29(5):48-9, 1975.
2. BRASIL. Leis, decretos, etc. Resolução n.º 8/72. *Diário Oficial*, Brasília, 4 mai. 1972. Seção 1, pt. 1, p. 3915. Inclui na Tabela I, do Decreto 55.871-65, em corantes naturais, como subtítulo dos carotenóides...
3. EMODI, A. — Carotenoids. Properties and applications. *Food Technol.*, 32(5):38-42, 1978.
4. FRAPS, G. S. & MEINKE, W. W. — Digestibility by rats of α , β , and neo β -carotenes in vegetables. *Archs Biochem.*, 6:323-7, 1945.
5. ISLER, O., ed. — *Carotenoids*. Basel, Birkhäuser, 1971. p. 785.
6. ORGANISACION MONDIALE DE LA SANTE — Besoins en vitamine A, thiamine, riboflavine et niacine. Rapport d'un groupe mixte FAO/OMS d'experts. Genève, OMS, 1967. [Ser. inf. tecn. n.º 362. Réunions de la FAO sur la nutrition n.º 41].
7. PHILIP, T. — Carotenoid esters in plant products. *Food Technol.*, 29(5):50, 54, 1975.
8. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. v. 1: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 2a ed. São Paulo, Melhoramentos, 1976. 71 p.
9. SÃO PAULO. Leis, decretos, etc. — Decreto n.º 12.486 de 20 de outubro de 1978. *Diário Oficial*, São Paulo, 21 out. 1978. p. 38. (NTA 82). Aprova normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas.
10. VILELLA, G. G. — *Pigmentos animais*. *Zoocromos*. [Rio de Janeiro, RJ]. Academia Brasileira de Letras, 1976.

Recebido para publicação em 15 de agosto de 1978.

OCORRÊNCIA DE *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS*, *ESCHERICHIA COLI* E DE BACTÉRIAS MESÓFILAS EM OSTRAS *

Dilma Scala GELLI **

Takako TACHIBANA **

Harumi SAKUMA **

RIALA6/476

GELLI, D. S.; TACHIBANA, T. & SAKUMA, H. — Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli* e de bactérias mesófilas em ostras. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):61-66, 1979.

RESUMO: Foram analisados 30 lotes de ostras não depuradas procedentes da região litorânea do sul do Estado de São Paulo e do norte do Paraná, no período de Janeiro a Novembro de 1975. Os resultados da contagem total de bactérias mesófilas (contagem padrão em placa) variaram entre um mínimo de 520 até acima de 3.000.000 de bactérias/g de ostra; a variação quantitativa de *Escherichia coli* foi de menos de 3 até um número maior ou igual a 24.000/g e a do *V. parahaemolyticus*, de 9,1 a 3.900.000/g de ostra. Os dados obtidos no presente trabalho sugerem que há influência sazonal na incidência numérica dos microrganismos pesquisados. Em vista dos resultados obtidos, discute-se o padrão de qualidade microbiológica assim como os parâmetros estabelecidos para tal, tanto no nosso como em outros países, para os moluscos bivalvos e também os aspectos sanitários relacionados com as determinações microbiológicas realizadas.

DESCRITORES: ostras, contaminantes microbianos; *Escherichia coli* em ostras; *Vibrio parahaemolyticus* em ostras; bactérias mesófilas em ostras.

INTRODUÇÃO

Os moluscos bivalvos, tais como as ostras e mariscos, são alimentos de importância nutricional. Estes organismos de vida sedentária e fixos em substratos marinhos, captam o alimento por sistema de filtração de água, o que permite a concentração dos microrganismos dispersos na água do mar em seus corpos. Os resultados dos exames microbiológicos, portanto, são indicativos da flora microbiana do ambiente marinho e da presença de contaminantes, inclusive patogênicos. Além de sentinelas das condições sanitárias do ambiente ma-

rinho, os exames microbiológicos desses moluscos também estão relacionados com a Saúde Pública, pois o seu consumo pode provocar tóxi-infecções alimentares.

Entre os contaminantes passíveis de serem transmitidos pelas ostras, os de maior incidência e importância pelo risco potencial que apresentam à saúde são a *Salmonella typhi* e o vírus da hepatite infecciosa. Este vírus tem se revelado um dos maiores problemas sanitários desta última década, em virtude do consumo de ostras cruas⁵. As toxi-infecções pelo *Vibrio cholerae* e pelo *V. parahaemolyticus* são

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

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

esporadicamente causadas pelo consumo desse alimento^{3, 5, 7}.

No Japão, onde são frequentes as toxi-infecções alimentares pelo *V. parahaemolyticus*, esse agente é veiculado principalmente pelo consumo de peixe, enquanto nos Estados Unidos é veiculado predominantemente pelo camarão^{3, 5, 7}.

Pelas pesquisas realizadas no Japão e nos Estados Unidos, a incidência quantitativa do *V. parahaemolyticus*, assim como as decorrentes toxi-infecções, são marcadamente sazonais: comuns no verão e ausentes no inverno. No Japão, as análises efetuadas com água do mar revelaram que o número desse microrganismo é de 93/100 ml no verão e de 2/100 ml no inverno. As análises efetuadas com ostras, nos Estados Unidos, demonstraram que o número desse agente é de 70.000/g no verão e de 10.000/g no inverno^{2, 6, 8}.

O critério microbiológico usado para a elaboração de padrões legislativos para a caracterização da qualidade sanitária dos moluscos não consideram o *V. parahaemolyticus* como parâmetro dessa qualidade e sua pesquisa só é recomendada nas regiões onde são frequentes as toxi-infecções por esse agente, ou quando os exames efetuados para os demais agentes toxi-infeciosos forem negativos. Assim, nos Estados Unidos, considerando-se a relativa quantidade de ostras cruas que são consumidas e a inexistência de toxi-infecções humanas relacionadas com o seu consumo, o risco potencial de infecção para o consumidor é baixo⁵. Porém, como já foi assinalado, os casos humanos têm como causa principal o consumo de camarões e, portanto, um número de 10^3 *V. parahaemolyticus*/g desse crustáceo é considerado como sinal de risco potencial, dando motivos para maiores investigações⁷.

Os índices microbianos utilizados internacionalmente para o estabelecimento das condições higiênico-sanitárias dos moluscos bivalvos têm como parâmetros microbiológicos a contagem total de bactérias mesófilas (contagem padrão em placas), os coliformes totais, os coliformes fecais e/ou a *Escherichia coli* e as bactérias patogênicas, em especial as salmonelas. Ainda, em alguns países, o padrão microbiológico incide, também, na região marinha de onde são extraídos ou captados os moluscos, através do controle de análises periódicas da água do mar; além disso há a obrigatoriedade de processos de depuração das ostras, visando a sua descontaminação^{1, 5, 7}.

A Alemanha, Coréia, Japão, Canadá e alguns estados dos Estados Unidos toleram uma contagem padrão em placas de até 500.000 bactérias mesófilas/g de ostra, enquanto a Dinamarca permite que essa contagem seja no máximo de 100.000/g do molusco. O Brasil ainda não estabeleceu limite para esse parâmetro^{2, 5, 7}.

A República Federal da Alemanha estabeleceu que o número de coliformes totais não pode ser superior a 230/100 g do molusco.

A Dinamarca determinou padrões para a pesquisa de *E. coli*, que deve ser negativa em 10 ostras analisadas; a França tolera que o número de *E. coli* seja menor ou igual a 1 *E. coli*/g de ostra a ser consumida crua e, no máximo, 2 *E. coli*/g das que serão consumidas após cocção. Na Itália, os moluscos expostos à venda no comércio não podem apresentar um número superior a 600 *E. coli*/100g. O Brasil tolera que os moluscos apresentem até 10^2 coliformes fecais/g do molusco^{2, 5, 7}. Note-se que o padrão para a *E. coli*, na legislação brasileira, expressa a tolerância por g de ostra, enquanto os padrões italianos, e os de outros países, expressam por 100 g. O padrão italiano significa 6 *E. coli*/g de ostra; em paralelo, o padrão brasileiro tolera 10.000 *E. coli*/100g do molusco.

Dentre os países que estabeleceram obrigatoriedade de pesquisa de bactérias patogênicas, estão a Alemanha e a Dinamarca. No Brasil, o padrão inclui os seguintes parâmetros: ausência de salmonelas em 25 g de ostra e tolerância de 10^3 *Staphylococcus aureus*/g do molusco^{2, 5, 7}.

A Itália, Inglaterra e alguns estados dos Estados Unidos estabeleceram padrão para a água do mar da região de onde se extraem os moluscos. A Itália permite a exploração se, no espaço de um ano, 90% das amostras de água do mar apresentarem um número de *E. coli* máximo de 160/100 ml da amostra e, em 10% das amostras, um número máximo de 500/100 ml desse microrganismo. A Inglaterra, para o mesmo espaço de tempo, estabeleceu que 90% das amostras apresente um número de *E. coli* não superior a 200/100 ml, e os restantes 10%, de 200-500/100 ml⁵.

A determinação do número de *E. coli* da água do mar de onde se extraem os moluscos tem importância na indicação da presença de enterobactérias e de outros microrganismos entéricos patogênicos. No trabalho de ANDREWS *et alii*¹, os resultados que foram obtidos demonstraram número de *E. coli* que indica presença de salmonelas; um número maior ou igual a 70 *E. coli*/100 ml de água do mar está intrinsecamente relacionado com o isolamento de salmonelas, o que não acontece quando o número de *E. coli* é menor ou igual a 14/100 ml. Entretanto, esses resultados estão localizados no tempo e no espaço, o que nem sempre permite sua extrapolação para outras áreas e épocas.

Considerando que as ostras concentram os microrganismos dispersos na água do mar, e que a tolerância para a aprovação da área do mar para a extração dos moluscos parece estar em nítida disparidade com os padrões microbiológicos para os moluscos à venda nos mercados, é importante salientarmos que é cor-

rente e obrigatório, na quase totalidade dos países citados, que as ostras sejam depuradas após a sua captura, seja ou por permanência em águas livres de contaminação, ou pela desinfecção por processos químicos, em especial a ozonização.

Complementando trabalho anterior⁴, e considerando o padrão microbiológico nacional, estabelecido em dezembro de 1977, republicado em junho de 1978², neste trabalho apresentaremos as determinações quantitativas do *V. parahaemolyticus*, da *E. coli* e da contagem em placas de ostras analisadas num período aproximado de um ano.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados 30 lotes de ostras procedentes da região de Cananéia (litoral sul do Estado de São Paulo) e/ou do norte do Estado do Paraná. Cada lote era composto de 8 a 10 unidades do molusco, que chegavam ao laboratório em sacos plásticos, refrigerados e acondicionados em caixa de isopor. As ostras estavam vivas, com as conchas firmemente unidas, sendo desprezadas as que se encontravam com as conchas abertas.

Após a lavagem externa das conchas, com escova e água corrente, as mesmas foram abertas com o auxílio de bisturis e pinças de aço inoxidável estéreis, em capela de fluxo laminar. Os organismos e a água interna contida nas conchas foram coletados com assepsia. 25 g do material assim constituído (água e animal) foram homogeneizados em 225 ml de solução salina peptonada (a 0,1%), estéril. Do homogeneizado, que se apresentava como a diluição 10⁻¹, obtiveram-se as diluições seriadas até 10⁻⁷, retirando-se 10 ml da diluição precedente, misturando-se com 90 ml de solução salina peptonada.

Contagem padrão em placas: 1,0 ml de cada diluição foi colocado em placas de Petri estéreis, acrescentando-se então 18-20 ml de ágar padrão para contagem (Standard Plate Count Agar), fundido e resfriado à temperatura aproximada de 45°C. Após a adequada mistura e solidificação do ágar as placas foram incubadas a 35°C/48h. As colônias que se desenvolveram foram contadas em contador de colônias tipo Quebec.

Número mais Provável de E. coli: 1,0 ml de cada diluição (até a diluição 10⁻³) foi semeado em 3 tubos de caldo lactosado-bile-verde brilhante, concentração simples, que foram incubados a 35°C/48 h. O material dos tubos positivos — com formação de gás no tubinho de Durham invertido no meio — foi semeado em placas de Holt-Harris e Teague, pelo método de estrias e, ao mesmo tempo, transferido para outros tubos de caldo lactosado-bile-verde brilhante, incubados a 44,5°C/48 h. O material desses últimos tubos, desde que positivos, foi semeado também em placas

de Holt-Harris e Teague. As placas, tanto do material incubado a 35°C como a 44,5°C, foram incubadas a 35°C/24 h. De 3 a 5 colônias típicas de *E. coli* que se desenvolveram foram isoladas em meio IAL⁸, presuntivo para a identificação de enterobactérias.

Número mais provável de V. parahaemolyticus: 1,0 ml de cada diluição foi semeado em 3 tubos de caldo GSTB (Glucose Salt Teepol Broth), incubados a 35°C/18-24 h. O material dos tubos positivos — com turvação e viragem do indicador — foi semeado em placas de TCBS (Thiosulfate Bile-salts Sucrose Agar), pelo método de estrias. Após incubação a 35°C/25 h, 3-5 colônias típicas, verde-azuladas, foram isoladas em meio de Rugai com 3% de NaCl e identificadas conforme metodologia já descrita⁴.

A expressão numérica dos resultados foi obtida multiplicando-se o número de colônias da contagem em placas pelo fator de diluição correspondente. Foram selecionadas para as contagens as placas que apresentavam entre 30-300 colônias. Para a expressão numérica do número mais provável, utilizou-se tabela correspondente, multiplicando-se o número mais provável da tabela pela penúltima diluição positiva.

RESULTADOS

Os resultados obtidos nas determinações quantitativas realizadas estão expressos na tabela 1. A média mensal dos resultados está expressa na tabela 2.

Pelos resultados da tabela 1, a qualidade microbiológica das ostras não depuradas não é homogênea. Há uma variação sazonal na incidência dos microrganismos, conforme os dados da tabela 2. Os meses mais frios do ano — maio, junho e julho — apresentam uma incidência quantitativa de bactérias menor que a dos meses mais quentes, apesar de uma das amostras (n.º 19 da tabela 1) ter apresentado resultados discordantes das demais, determinando que a média mensal de junho das determinações de contagem padrão em placas e de *E. coli* não se relaciona coerentemente com a do *V. parahaemolyticus* (tabela 1 e 2).

Dos resultados das amostras analisadas nesse período de 11 meses, concluímos que há uma variação sazonal na incidência quantitativa dos parâmetros microbiológicos estudados e, pela presença de *E. coli*, que há contaminação fecal freqüente nas amostras por nós analisadas.

Das amostras analisadas, 28 (93,33%) atendem ao padrão nacional fixado para os moluscos bivalvos e 2 (6,66%) ultrapassam este limite. Pela legislação de outros países e de acordo com nossos resultados, as ostras analisadas podem ser consideradas de má qualidade microbiológica.

TABELA 1

Resultados obtidos das determinações de contagem de bactérias mesófilas, de *E. coli* e de *V. parahaemolyticus*

N.º amostra	Contagem padrão/g	NMP * <i>E. coli</i> /100 g	NMP <i>V. parahaemo-lyticus</i> /g	Mês
1	16.000	150	1,1x10 ⁵	Janeiro
2	17.400	430	1,1x10 ⁴	Fevereiro
3	193.000	750	7,5x10 ⁴	Fevereiro
4	1.060.000	≥ 24.000	1,1x10 ⁶	Fevereiro
5	> 3.000.000	230	3,9x10 ⁶	Fevereiro
6	1.370.000	2.400	2x10 ⁴	Março
7	> 3.000.000	1.500	7,510 ⁵	Março
8	84.000	930	3,6x10 ³	Março
9	54.000	2.400	7,5x10 ³	Março
10	3.900	≤ 3	3,9x10 ⁶	Março
11	58.000	430	1,2x10 ⁴	Abril
12	540	30	3,6x10	Abril
13	6.000	2.400	2,4x10 ³	Abril
14	17.500	≤ 3	3,9x10 ²	Maio
15	1.870	230	9,3x10	Maio
16	14.000	≤ 3	9,1	Maio
17	55.000	≤ 3	3,9x10 ²	Junho
18	580	430	4,6x10 ²	Junho
19	124.000	≥ 24.000	2,3x10	Junho
20	650	70	2,4x10	Julho
21	7.900	≤ 3	9,3	Julho
22	7.200	210	4,6x10 ³	Julho
23	32.000	430	7,5x10 ⁴	Agosto
24	520	230	1,5x10	Setembro
25	400.000	4.600	2,4x10 ⁵	Setembro
26	42.000	930	4,6x10 ³	Setembro
27	> 3.000.000	4.600	2,4x10 ³	Outubro
28	74.000	290	2,0x10	Outubro
29	15.400	750	1,1x10 ³	Novembro
30	127.000	430	4,6x10 ⁴	Novembro

* NMP = número mais provável.

TABELA 2

Resultados das determinações de contagens de bactérias mesófilas, de *Escherichia coli* e de *Vibrio parahaemolyticus*. Média mensal.

Mês	Lotes analisados	<i>E. coli</i> /100 g Média	Bactérias mesófilas/g Média	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> /g Média
Janeiro	1	150	16.000	1,1x10 ⁵
Fevereiro	4	6.352,5	1.067.600	3,4x10 ⁵
Março	5	1.446,6	902.380	4,9x10 ⁴
Abril	3	953,3	21.513	2,9x10 ³
Mai	3	78,6	11.123	7,9x10 ²
Junho	3	8.144,3	59.860	4,1x10 ²
Julho	3	94,3	5.250	5,4x10
Agosto	1	430	32.000	7,5x10 ⁴
Setembro	3	1.920	147.506	3,2x10 ²
Outubro	2	2.445	1.537.000	2,2x10 ²
Novembro	2	690	71.200	3,4x10 ³

DISCUSSÃO

Apesar de o *V. parahaemolyticus* não ser considerado parâmetro de significado para a presunção da qualidade microbiológica das ostras, sua presença no levantamento executado reafirma que este agente se encontra no ambiente marinho. A variação sazonal quantitativa deve ser considerada, pois significa que existe risco potencial à Saúde Pública pelo consumo de produtos de origem marinha nas estações quentes do ano. A presença do *V. parahaemolyticus* independe da presença de contaminantes fecais, por ser ubiqüitário de ambiente marinho.

Pelo fato de os processos de desinfecção não serem incentivados em nosso país, nem serem cogitadas normas necessárias para os procedimentos de depuração dos moluscos bivalvos, recomendamos iniciativas legais para processos de depuração de ostras, no sentido de minimizar possíveis riscos à saúde por agentes patogênicos microbianos. Ainda, que sejam realizados levantamentos correlatos ao presente trabalho para a obtenção de dados que contribuam para complementar e determinar os parâmetros microbiológicos dos padrões legislativos dessa classe de alimentos.

RIALA6/476

GELLI, D. S.; TACHIBANA, T. & SAKUMA, H. — Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli* and mesophilic bacteria in oysters. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):61-66, 1979.

SUMMARY: A bacteriological examination was made of 30 pools of commercial oysters originating from the shores of Southern São Paulo and Northern Paraná. Mesophilic bacteria (standard counting on plates) varied from 520 to 3,000,000 bacteria per g of oyster. *Escherichia coli* varied from 3 to 24,000/g and, *Vibrio parahaemolyticus*, from 9.1 to 3,900,000/g of oyster. Apparently, there was a seasonal influence on the frequencies obtained. The results are discussed in the light of Brazilian and international standards of microbiologic quality of bivalve mollusk foods as well as the public health implications of the microbiological findings.

DESCRIPTORS: oysters, microbiological contaminants; *Escherichia coli* in oysters; *Vibrio parahaemolyticus* in oysters; mesophilic bacteria in oysters.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDREWS, W. H.; DIGGS, C. D.; PRESNELL, M. W.; MIESCIER, J. J.; WILSON, C. R.; GOODWIN, C. P.; ADAMS, W. N.; FURFARI, S. A. & MUSSELMAN, J. F. — Comparative validity of members of the total coliform and fecal coliform groups for indicating the presence of *Salmonella* in the Eastern oyster, *Crassostrea virginica*. *J. Milk Food Technol.*, 38:453-6, 1975.
2. BRASIL, Leis, Decretos, etc. — Resolução n.º 13/78. Diário Oficial, Brasília, DF, 25 jul. 1978. Seção I, pt I, p. 11616-7. [Resolução aprovada pela Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos no mês de março de 1978].
3. COLWELL, R. R.; LOVELACE, T. E.; WAN, L.; KANEKO, T.; STALEY, T. CHEN, P. K. & TUBIASH, H. — *Vibrio parahaemolyticus* — isolation, identification, classification, and ecology. *J. Milk Food Technol.*, 36:202-13, 1973.
4. 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.
5. HUNT, D. A.; MIESCIER, J.; REDMAN, J. & SALINGER, A. — Molluscan shellfish, fresh or fresh frozen oysters, mussels, or clams. In: APHA. Intersociety Agency/Committee on Microbiological Methods for Foods. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington, D. C., v. 1976. p. 522-39.
6. LISTON, J. & BARROS, J. — Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in the natural environment. *J. Milk Food Technol.*, 36:113-17, 1973.
7. LISTON, J. & MATCHES, J. R. — Fish, crustaceans, and precooked seafoods. In: APHA. Intersociety Agency/Committee on Microbiological Methods for Foods — *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington, D. C., c1976. p. 507-21.
8. PESSÓA, G. V. A. & SILVA, E. A. M. — Meios de Rugai e Lisina-motilidade combinados em um só tubo para a identificação presuntiva de enterobactérias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 32:97-100, 1972.
9. 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 foods*. London, Academic Press, 1973. p. 375-85.

Recebido para publicação em 15 de agosto de 1978.

DETERMINAÇÃO DA ADIÇÃO DE ÓLEO DE SOJA A OUTROS ÓLEOS VEGETAIS COMESTÍVEIS POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA *

Paulo de Almeida VIDAL **

Almir José RICCIARDI **

Jacob Fernando FERREIRA **

RIALAG/477

VIDAL, P. A.; RICCIARDI, A. J. & FERREIRA, J. F. — Determinação da adição de óleo de soja a outros óleos vegetais comestíveis por cromatografia em fase gasosa. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):67-77, 1979.

RESUMO: O óleo de soja é o único óleo vegetal comestível pertencente ao grupo do ácido linolênico, produzido em larga escala. Para se identificar o óleo de soja e se constatar a sua adição a outros óleos vegetais comestíveis, foi realizada a cromatografia em fase gasosa dos ésteres metílicos dos ácidos graxos de diversas amostras de óleos, com a detecção do ácido linolênico e sua dosagem, por comparação com uma amostra de ácido padrão. Os resultados obtidos permitiram a identificação do óleo de soja e a determinação do seu teor quando adicionado a outros óleos vegetais comestíveis.

DESCRIPTORIOS: óleo de soja, determinação do ácido linolênico; óleos vegetais comestíveis, fraude pela adição do óleo de soja; ácido linolênico, determinação em óleos vegetais comestíveis por cromatografia em fase gasosa.

INTRODUÇÃO

Devido à produção nos dias de hoje do óleo de soja em larga escala, a preços inferiores aos dos demais óleos vegetais comestíveis, há um campo aberto à falsificação, pela adição do óleo de soja, em variadas proporções, aos outros óleos mais caros, principalmente o de oliva.

A realização das reações de identificação do óleo de soja, assim como a determinação dos índices físico-químicos não permitem, muitas vezes, que seja constatada a mistura de óleos e, muito menos, em que proporções foram realizadas as misturas.

Como, segundo KIRK & OTHMER⁵, o óleo de soja é o único óleo vegetal comestível de grande produção, pertencente ao grupo do ácido linolênico (ácido 9, 12, 15)-octadecatrienóico), a

identificação e dosagem deste ácido no óleo submetido a exame têm sido consideradas, por diversos autores, para a determinação da presença de óleo de soja em outros óleos.

O'CONNOR *et alii*⁶ usaram a espectrofotometria na dosagem do ácido linolênico, para a determinação da presença de óleo de soja no de algodão, e em outros óleos livres de ácido triênicos.

Atualmente, a determinação dos ácidos graxos constituintes dos óleos e gorduras naturais é realizada principalmente pela cromatografia em fase gasosa, após a sua transformação nos correspondentes ésteres metílicos, por diversos métodos, dos quais JAMIESON & REID⁴ fizeram um estudo comparativo.

O "Official Method of Analysis" da A.O.A.C.¹ descreve um método de espectrofo-

* Realizado no Laboratório I de Ribeirão Preto, SP, do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Laboratório I de Ribeirão Preto.

tometria no ultravioleta, para a determinação de ácidos polinsaturados, inclusive o ácido linolênico, assim como um método para a separação e determinação dos ésteres metílicos de ácidos graxos de gorduras animais e vegetais, possuindo de oito a vinte e quatro átomos de carbono, por cromatografia em fase gasosa.

No presente trabalho, usamos a técnica da cromatografia em fase gasosa dos ésteres metílicos dos ácidos graxos, para a identificação e dosagem do ácido linolênico nos óleos extraídos diretamente das matérias-primas mais comuns empregadas no Brasil e, por comparação com seu teor no óleo de soja, pudemos determinar as proporções em que este se encontrava misturado com outros óleos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais

O trabalho foi realizado com as seguintes amostras:

- a) Ácido linolênico padrão para cromatografia em fase gasosa*;
- b) óleos extraídos, por éter etílico, em extrator de Soxhlet, das seguintes matérias-primas: caroço de algodão, amendoim, oliva, girassol, arroz, milho e soja;
- c) óleos de soja industrializados, comumente encontrados no comércio;
- d) óleo misto de soja e oliva.

Métodos

a) *Metilação das amostras* — As amostras, antes de serem analisadas por cromatografia em fase gasosa, foram metiladas pelo processo de transesterificação empregado por BADO-LATO & ALMEIDA² descrito a seguir, observando-se que o frasco de transesterificação, usado por aqueles autores, foi substituído por um conjunto constituído de um frasco Erlenmeyer de 200 ml com boca esmerilhada, à qual foi adaptado um tubo de vidro graduado, com 1 cm de diâmetro interno (fig. 1); no frasco Erlenmeyer, foram pesados exatamente cerca de 25 mg da amostra, aos quais foram adicionados em seguida 15 ml de H₂SO₄ a 2% em metanol e 3 ml de hexano. Foi feito o aquecimento, em banho-maria, em refluxo, durante uma hora. Após o resfriamento, foram adicionados 40 ml de solução saturada de NaCl, e foi feita agitação durante um minuto. Ao frasco Erlenmeyer foi adaptado o tubo de vidro graduado, e adicionada mais solução de NaCl até

a camada de hexano, contendo os ésteres metílicos, ficar contida na região graduada do tubo. Como, durante o aquecimento em refluxo, houve evaporação parcial do hexano, o seu volume foi novamente medido, antes da retirada da amostra a ser injetada.

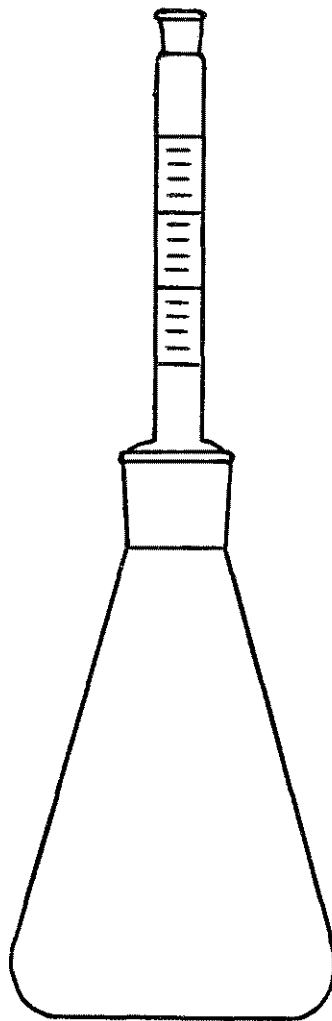


Fig. 1 — Conjunto de transesterificação.

b) *Cromatografia em fase gasosa dos ésteres metílicos* — Para análise dos ésteres metílicos obtidos foi empregado um cromatógrafo** a gás com detector de ionização de chama, com as seguintes condições de operação:

* Carlo Erba Brasil SA Ind. Quim. Farm.

** Marca CG, mod. 370.

Coluna: CG — 618 DEGS, 20% ChrW. 2 m, 3/16 pol. de diâmetro

Temperatura da coluna: 180°C

Temperatura do detector: 220°C

Temperatura do injetor: 210°C

Gás de arraste: nitrogênio

Fluxo: 30 ml/min

Velocidade do papel: 0,1 pol./min

Sensibilidade: 1×10^{-9} inicialmente; e $0,3 \times 10^{-9}$, após a saída do ácido linolênico (3,6 pol.).

c) *Identificação e dosagem do ácido linolênico* — A identificação e a dosagem do ácido linolênico foram feitas por comparação entre os tempos de retenção e as áreas relativas ao padrão injetado e os tempos de retenção e as áreas relativas às amostras dos óleos estudados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

a) *Cromatografia do ácido linolênico padrão* — Obtido o éster metílico da amostra do ácido linolênico padrão, foi feita uma diluição de 1:10 da solução, com hexano. Desta solução diluída, foram injetados, no cromatógrafo, volumes variados, contendo as quantidades de ácido linolênico indicadas na tabela 1, onde são dadas ainda as respectivas áreas sob os picos. Estas foram obtidas multiplicando-se a altura do pico pela largura na metade da altura. Com estes dados obtidos, foi traçado um gráfico (fig. 2).

TABELA 1

Correspondência entre quantidades de ácido linolênico injetadas e áreas obtidas nos cromatogramas

Ácido linolênico μg	Áreas cm ²
7,78	9,43
6,67	7,91
5,55	6,52
4,44	5,04
3,33	3,81
2,22	2,81
1,11	1,42
0,55	0,79

b) *Determinação do ácido linolênico em óleos extraídos de diversas matérias-primas* — Os óleos extraídos diretamente das seguintes matérias-primas: caroço de algodão, oliva, soja, amendoim, milho, arroz e girassol foram submetidos ao processo de transesterificação e injetados no cromatógrafo, obtendo-se os dados da tabela 2, onde as quantidades de ácido linolênico foram determinadas através do gráfico (fig. 2) e as percentagens de ácido linolênico nas amostras examinadas foram calculadas pela seguinte fórmula:

$$\frac{P_2 \times V_1}{P_1 \times V_2} \times 100 = \text{ácido linolênico p/ cento, p/p}$$

P_1 = amostra de óleo (mg)

P_2 = ácido linolênico no volume V_2 (μg)

V_1 = volume da solução da amostra em hexano, após transesterificação (ml)

V_2 = volume da solução da amostra injetada (μl)

c) *Determinação do ácido linolênico em amostras de óleos de soja industrializados, encontrados comumente no comércio* — Pelo processo empregado no item anterior, foram determinados os teores de ácido linolênico em amostras de sete óleos de soja de marcas comumente encontradas no comércio, segundo os dados relacionados na tabela 3.

d) *Determinação da quantidade de óleo de soja adicionado a outros óleos vegetais comestíveis* — Considerando os teores de ácido linolênico encontrados nos óleos de outras matérias-primas (tabela 2) e o teor médio deste ácido, relativo às sete amostras de óleos de soja examinadas (tabela 3), foi traçado um gráfico (fig. 3) que permite a determinação da quantidade de óleo de soja adicionado a óleos de qualquer uma das matérias-primas estudadas, após as medidas das áreas dos picos referentes ao ácido linolênico, obtidos nos cromatogramas.

As figuras 4, 5 e 6 correspondem respectivamente aos cromatogramas obtidos de óleo de soja puro, de óleo de oliva puro e de óleo misto de soja e oliva, contendo 50% em volume de cada óleo componente.

CONCLUSÃO

A cromatografia em fase gasosa dos ésteres metílicos dos ácidos graxos de óleos vegetais comestíveis permitiu não só a identificação do óleo de soja, como também o seu teor quando adicionado a outros óleos, pela constatação da presença e pela dosagem de ácido linolênico.

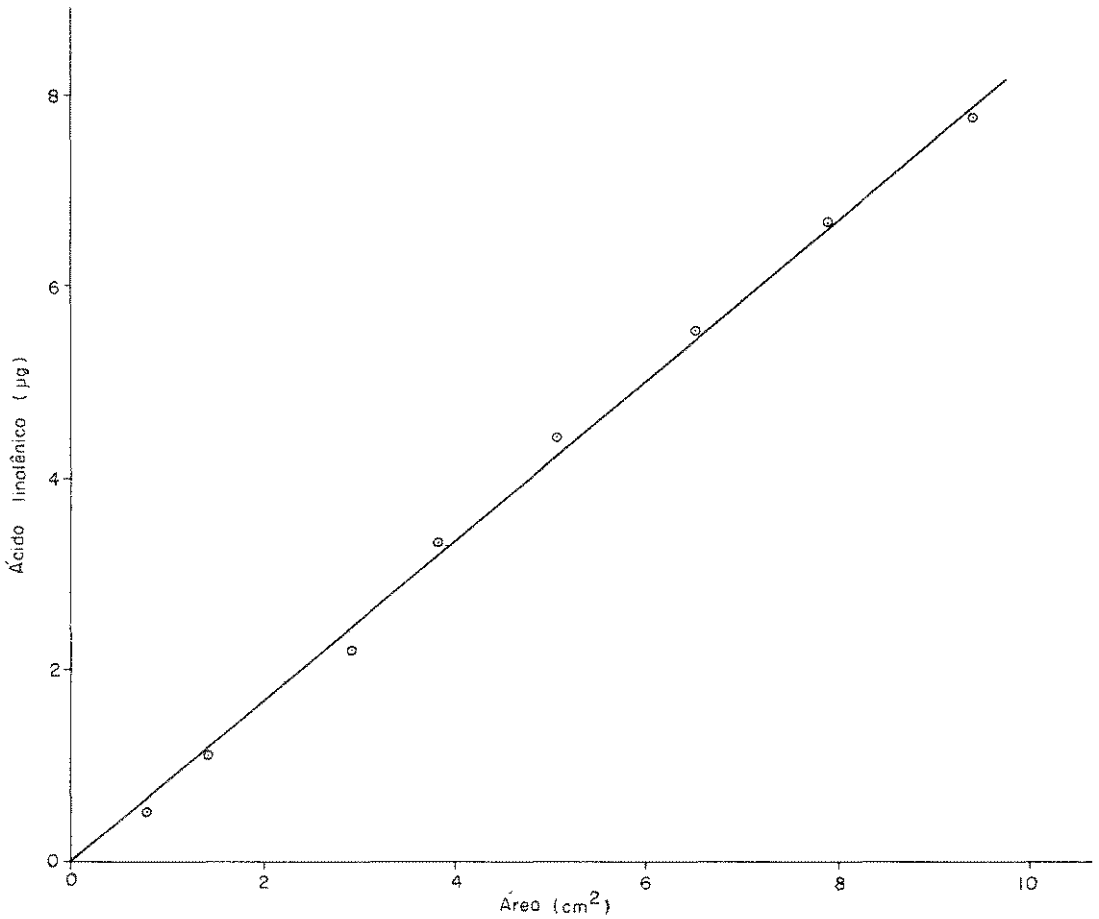


Fig. 2 — Correspondência entre quantidades de ácido linolênico injetadas no cromatógrafo e áreas sob os picos, obtidas nos cromatogramas.

TABELA 2

Ácido linolênico em óleos vegetais comestíveis

Óleo	Peso da amostra mg	Volume da solução em hexano, após a transesterificação ml	Volume da solução em hexano, injetado μ l	Área correspondente ao ácido linolênico cm^2	Ácido linolênico no volume injetado μg	Ácido linolênico na amostra de óleo percentagem, p/p
Soja	30,0	1,3	4	7,97	6,66	7,21
Oliva	33,0	0,7	4	1,83	1,52	0,81
Amendoim	27,2	1,9	6	0,00	0,00	0,00
Arroz	27,9	1,0	6	1,92	1,60	0,95
Milho	25,0	1,5	6	1,05	0,88	0,88
Algodão	45,2	1,7	6	0,35	traços	traços
Girassol	31,1	1,7	6	0,00	0,00	0,00

TABELA 3

Ácido linolênico em diversas amostras de óleos de soja comerciais

Amostra	Peso da amostra mg	Volume da solução em hexano, após a transesterificação ml	Volume da solução em hexano, injetado μ l	Área correspondente ao ácido linolênico cm^2	Ácido linolênico no volume injetado μg	Ácido linolênico na amostra de óleo percentagem, p/p
A	32,3	1,7	4	6,55	5,56	7,31
B	30,0	1,3	4	7,97	6,66	7,21
C	31,9	1,4	4	7,86	6,58	7,22
D	34,7	1,5	4	8,69	7,26	7,84
E	33,4	1,2	4	8,26	6,92	6,21
F	32,6	1,4	4	8,36	7,00	7,51
G	32,9	1,5	4	7,05	5,90	6,72
						Média 7,14

VIDAL, P. A.; RICCIARDI, A. J. & FERREIRA, J. F. — Determinação da adição de óleo de soja a outros óleos vegetais comestíveis por cromatografia em fase gasosa. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39 (1):67-77, 1979.

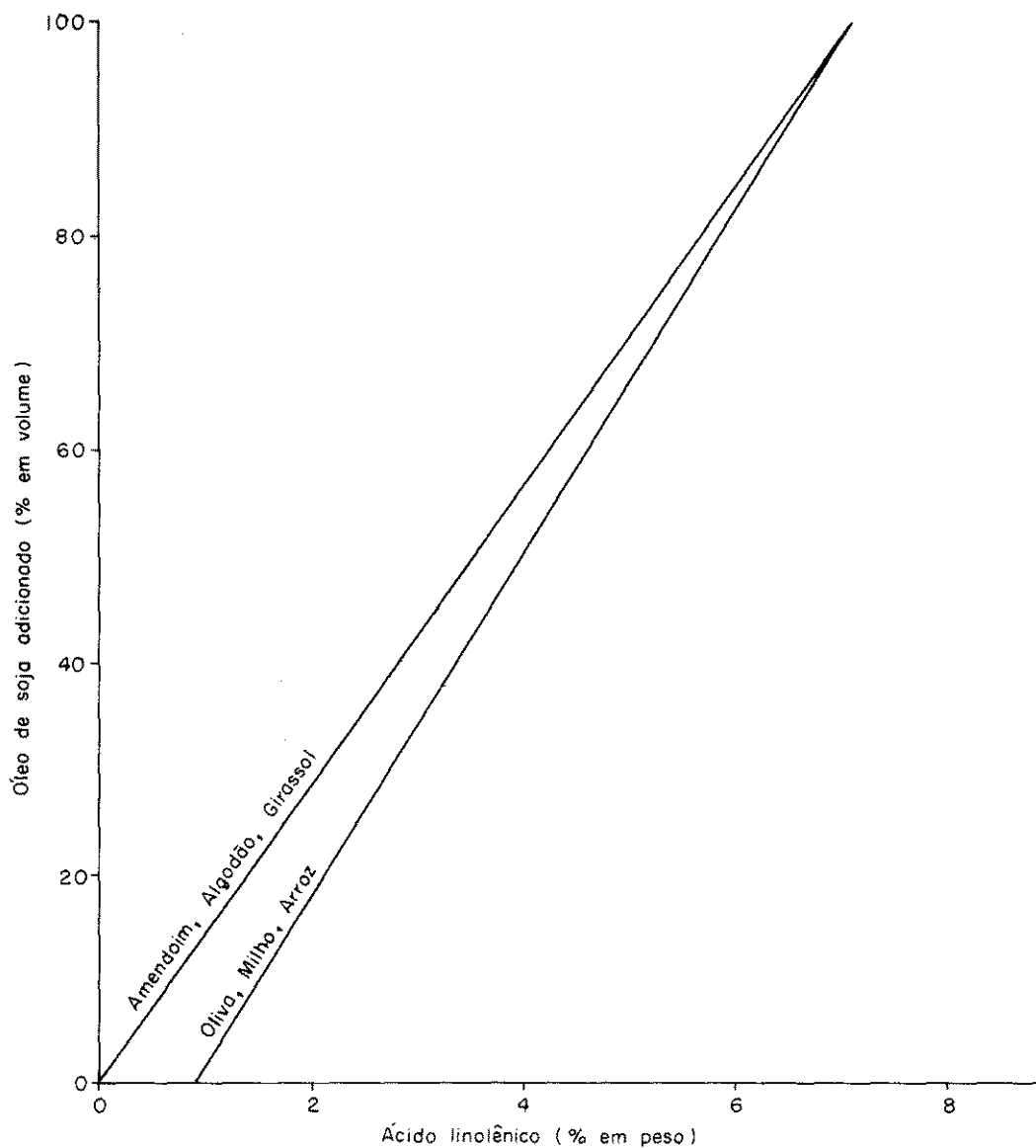


Fig. 3 — Quantidade de óleo de soja adicionado a outros óleos, em função do teor de ácido linolênico.

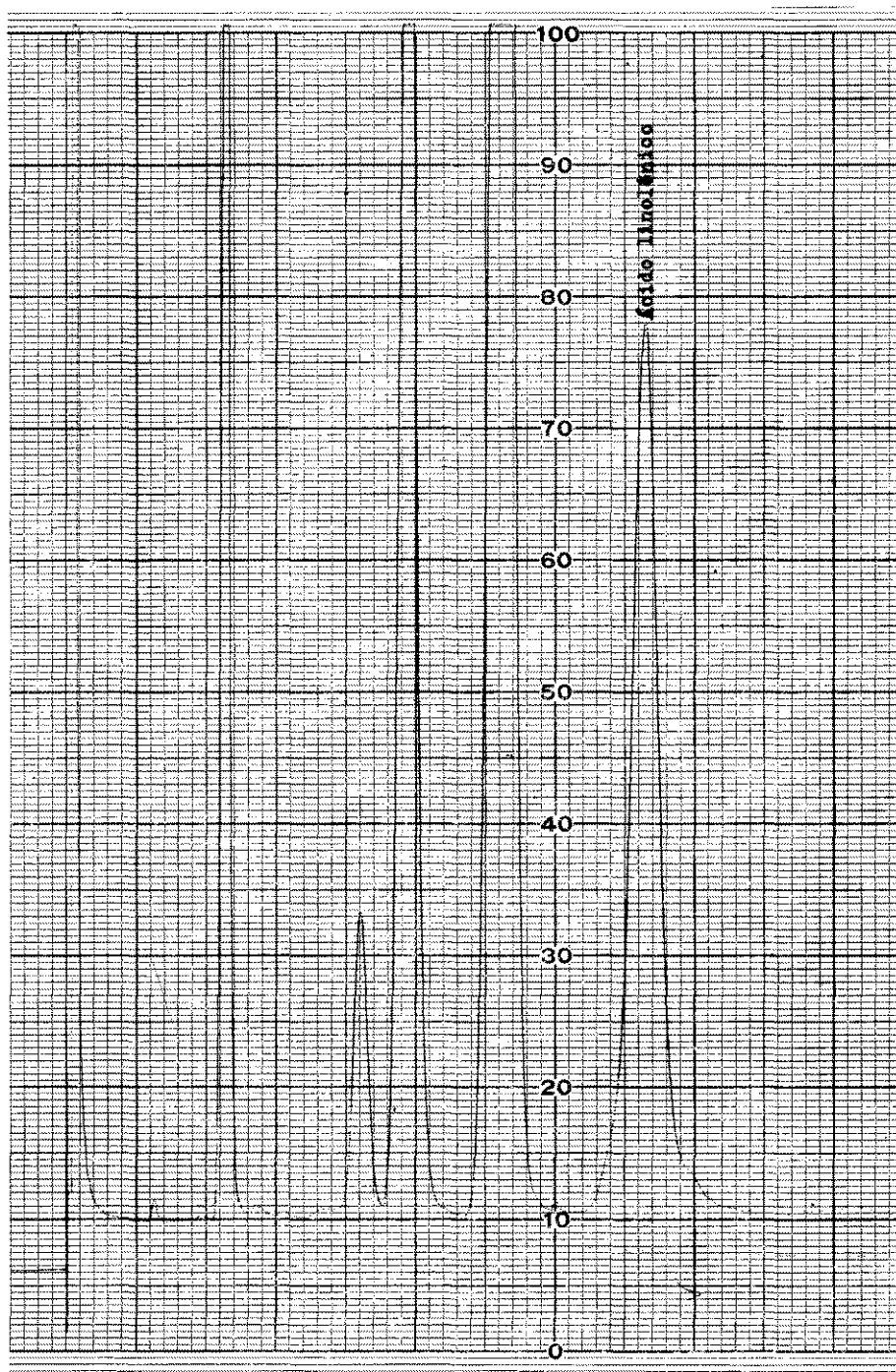


Fig. 4 -- Cromatograma de óleo de soja puro. (Conc.: 34,5 mg/1,5 ml; vol. inj.: 4 μ l; col.: CG-618 DEGS, 20% ChrW, 2 m, diâm. 3/16 pol.; D.I.C.; temp. col.: 180°C; temp. inj.: 210°C; temp. det.: 220°C; fluxo: 30 ml/min.; veloc. pap.: 0,1 pol./min.; sensib.: 1×10^{-9} (e $0,3 \times 10^{-9}$).

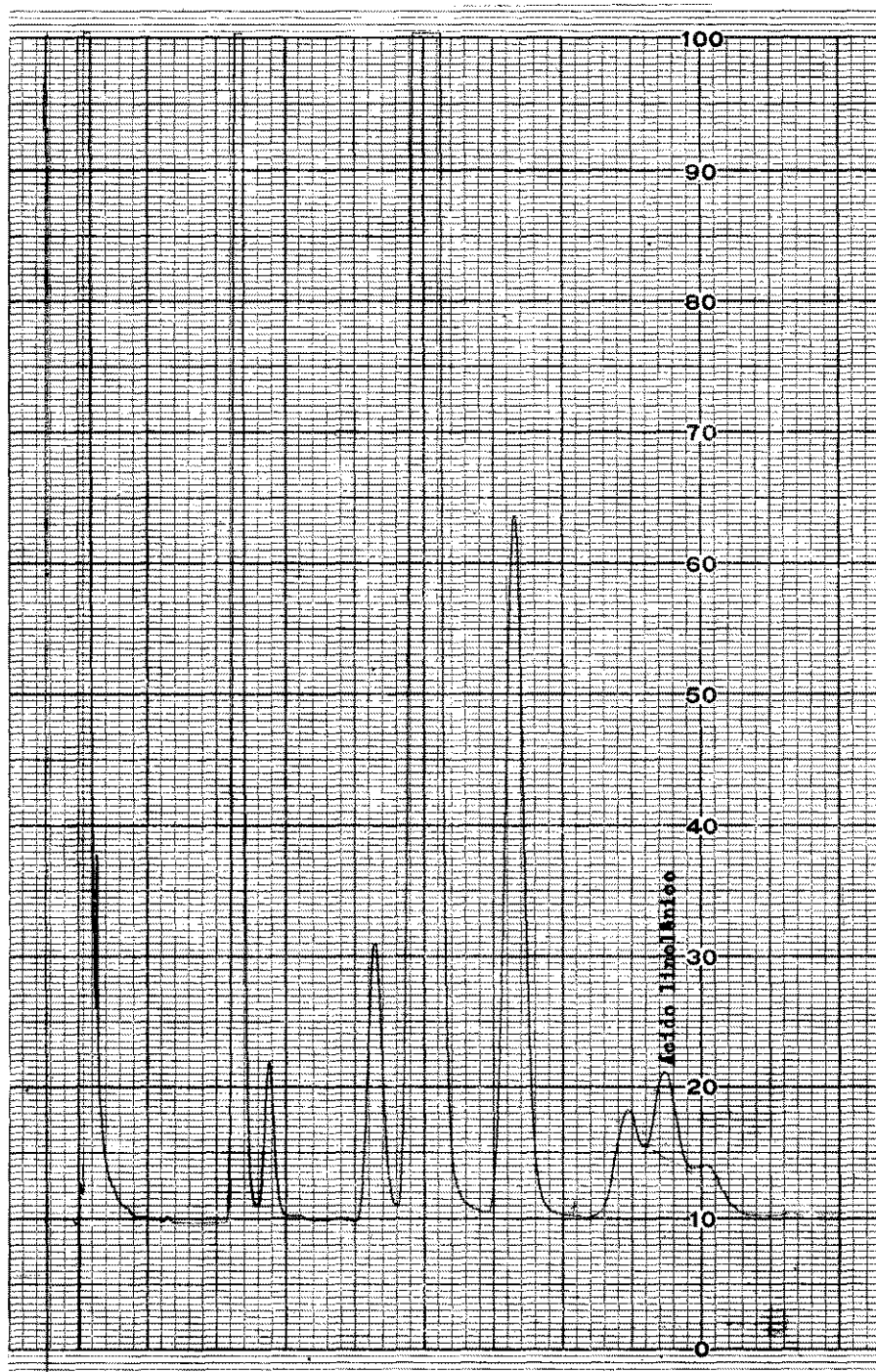


Fig. 5 — Cromatograma de óleo de oliva puro. (Conc.: 32,5 mg/0,7 ml; vol. inj.: 4 μ l; col.: CG-618 DEGS, 20% ChrW, 2m, diâm. 3/16 pol.; D.I.C.; temp. col.: 180°C; temp. inj.: 210°C; temp. det.: 220°C; fluxo: 30 ml/min.; sensib.: 1×10^{-9} (e $0,3 \times 10^{-9}$).

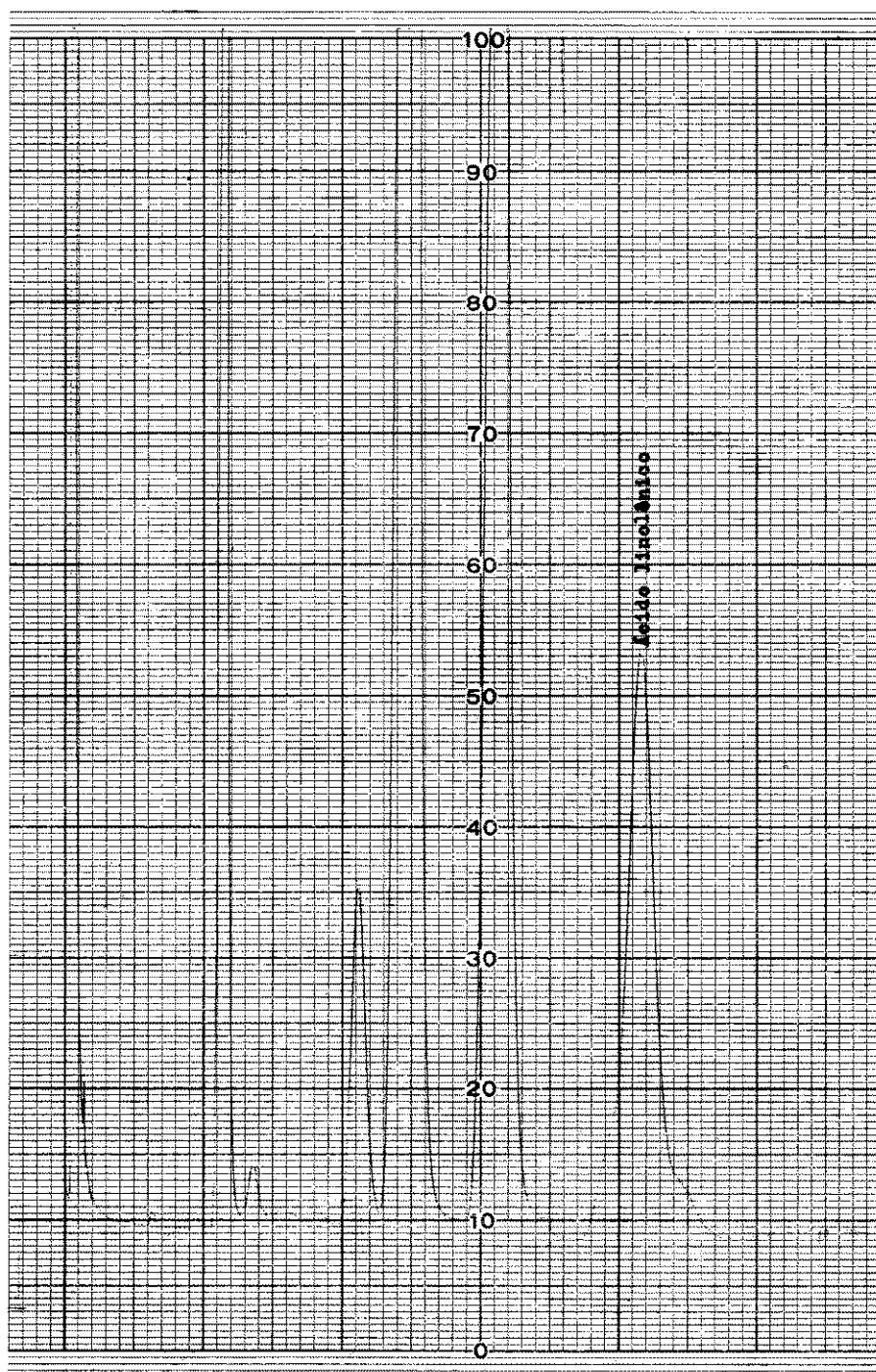


Fig. 6 — Cromatograma de óleo misto de soja e oliva, contendo 50% em volume de cada óleo componente. (Conc.: 30,0 mg/1,8; vol. inj.: 6 μ l; col.: CG-618 DEGS, 20% ChrW, 2 m, diâm. 3/16 pol.; D.I.C. temp. col.: 180°C; temp. inj.: 210°C; temp. det.: 220°C; fluxo: 30 ml/min.; veloc. pap.: 0,1 pol./min.; sensib.: 1×10^{-9} (e $0,3 \times 10^{-9}$).

VIDAL, P. A.; RICCIARDI, A. J. & FERREIRA, J. F. — Determinação da adição de óleo de soja a outros óleos vegetais comestíveis por cromatografia em fase gasosa. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):67-77, 1979.

RIALA6/477

VIDAL, P. A.; RICCIARDI, A. J. & FERREIRA, J. F. — Disclosure of soybean oil and other vegetable oils as food additives through gas-liquid chromatography. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):67-77, 1979.

SUMMARY: Gas-liquid chromatography of methyl esters of fatty acids in various oil sample was conducted to disclose the use of soybean oil as an additive to other vegetable oils. The linolenic acid was determined through comparison with a standard oil sample. The addition of soybean oil was readily detected.

DESCRIPTORS: soybean oil, linolenic acid determination; edible vegetable oils, adulteration by addition of soybean oil; linolenic acid in edible vegetable oils, 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, D. C., A. O. A. C., 1975. p. 493-497, 499-500.
2. BADOLATO, E. S. G. & ALMEIDA, M. E. W. — Pesquisa por cromatografia em fase gasosa da adulteração de chocolates. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 37:47-56, 1977.
3. BAILEY, A. E. — *Aceites e grasas industriales*. Barcelona, Reverté, 1961. p. 141.
4. JAMIESON, G. R. & REID, E. H. — The analysis of oils and fats by gas-chromatography. *J. chromat.*, 17:230-7, 1965.
5. KIRK, R. E. & OTHMER, D. F., ed. — *Encyclopedia of chemical technology*. New York, Interscience, 1951. v. 6, p. 147.
6. O'CONNOR, R. T.; HEINZELMAN, D. C. & DOLLEAR, F. C. — Spectrophotometric estimation of soybean in moistures admitted with cotton seed and peanut oil. *Oil Soap*, 22:257-63, 1945.

Recebido para publicação em 28 de agosto de 1978.

FILARIA DERMATHEMICA E ONCOCERCOSE
(EN BRASIL SE DESCUBRIÓ LA ONCOCERCOSIS EN 1875) *

Marcelo O. A. CORRÊA **
Mário A. P. MORAES **

RIALAG/478

CORRÊA, M.O.A. & MORAES, M.A.P. — *Filaria dermatheica* e oncocercose (En Brasil se descubrió la oncocercosis en 1875). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):79-83, 1979.

RESUMO: *Filaria dermatheica*, espécie criada pelo Dr. Silva Araújo, em 1875, no Brasil, para denominar os parasitos que ele encontrara em lesões cutâneas de seu próprio corpo, não se manteve e caiu em sinonímia de *Wuchereria bancrofti*. Os vermes descritos pelo Dr. Silva Araújo não eram outros senão as microfíliarias de *W. bancrofti* (filária abundante, na época, em Salvador, Bahia), que ele erradamente supôs vivesses na pele, embora as tivesse observado no sangue retirado das lesões. Como facilmente se deduz das citações feitas neste trabalho, nem o Dr. Silva Araújo, nem seus contemporâneos, algum tempo após a publicação da nova espécie, abrigavam dúvidas sobre ser *Filaria dermatheica* a mesma *Filaria sanguinis hominis*, de Lewis, e a mesma *Filaria bancrofti*, de Cobbold. A possibilidade de se tratar de oncocercose a doença referida como filariose pelo médico brasileiro fica afastada, além disso, por dois motivos: nunca esteve o Dr. Silva Araújo em zona oncocercótica (ao sair da Bahia, por volta de 1880, fixou-se no Rio de Janeiro, onde viveu até sua morte em 1900), e nunca se soube da existência de uma zona endêmica em seu Estado.

DESCRITORES: oncocercose; filariose.

INTRODUÇÃO

Em um artigo publicado em 1976 sobre a possibilidade de a oncocercose ter sido descoberta primeiro no Brasil, o Dr. JAVIER J. TORROELLA¹ colocou em questão o parasito *Filaria dermatheica*, descrito pelo Dr. SILVA ARAÚJO², na Bahia, em 1875. O objetivo era determinar se se tratava ou não de *Onchocerca volvulus* essa filária que o Dr. Silva Araújo encontrara em lesões de seu próprio corpo.

Infelizmente, não teve o Dr. Torroella acesso ao original do trabalho — hoje, na verdade, um livro muito raro — contendo a descrição de *Filaria dermatheica*. Seu conhecimento

do assunto se fez através de um resumo preparado por Marcano para a "Revue de Sciences Medicales" (1876), no qual, a par de um erro nas dimensões dos vermes, vários detalhes foram omitidos, como o fato de o único paciente observado com a doença ter sido o próprio autor.

Ao ler o artigo do Dr. Torroella, um de nós (M. O. A. C.) lembrou-se de que na Biblioteca do Dr. Pirajá da Silva (1873-1961), ilustre professor baiano, doada após sua morte ao Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, talvez se encontrasse, como de fato aconteceu, um exemplar do livro "Memória sobre a Filariose ou a moléstia produzida por uma nova

* Trabalho publicado parcialmente, sem autorização dos autores, na *Rev. Fund. SESP*, 23(1):5-37, 1978.

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

*** Do Instituto Evandro Chagas, Belém, PA.

espécie de parasita cutâneo, descoberto por Antônio José Pereira da Silva Araújo", de onde Marcano extraíra o resumo. A leitura do mesmo nos convenceu, como a seguir mostraremos, serem os vermes chamados de *Filaria dermatheica* apenas microfílarias de *Wuchereria bancrofti*, uma filária abundante, na época, em Salvador, Bahia, cidade onde vivia o autor do livro em questão.

FILARIA DERMATHEICA

Como pontos mais importantes da memória sobre *Filaria dermatheica*, destacamos os seguintes:

No dia 25 de fevereiro de 1875, resolveu o Dr. Silva Araújo, para estudos hematológicos, usar seu próprio sangue em observação microscópica; ao invés, porém, de retirá-lo do dedo, decidiu obtê-lo de uma "escoriação" na perna direita, resultante da dilaceração pelas unhas de pequenas pápulas acuminadas e vermelhas, que há tempos lhe apareciam, de vez em quando, por todo o corpo, acompanhadas sempre do "mais veemente prurido". No sangue encontrou parasitos vermiformes, medindo 0,25 a 0,35 mm de comprimento e 0,008 a 0,009 mm de diâmetro. Posteriormente, considerou que as pápulas tinham como causa a presença irritativa desses vermes.

No dia 16 de março, à noite (conforme ele precisou), de algumas vesículas nos dedos, que haviam sido raspadas e estavam cobertas por uma crosta, obteve ele várias gotas de sangue, onde observou numerosos parasitos. Já no dia 25 de março, pela manhã, conseguiu encontrar apenas um "animálculo".

As observações mais interessantes, porém, foram realizadas no mês de maio: no dia 22, à noite, colhendo sangue de uma lesão, pôde contar mais de 50 exemplares de *Filaria dermatheica*, nome que deu ao parasito. Na manhã seguinte, entretanto, não lhe foi possível, no sangue da mesma lesão, encontrar um só.

Em outras ocasiões, o fato se repetiu. Houve um dia em que, de balde, trabalhou das nove da manhã até o meio-dia e da uma às cinco horas da tarde: não obteve nenhum parasito. Para explicar a discrepância, uma vez que acreditava serem as lesões produzidas pelos vermes, sugeriu que nas pápulas recentes ou de nova formação estes ainda não existiriam em quantidade suficiente para permitir seu achado microscópico.

Os detalhes a que desceu o autor (a apresentação dos fatos é feita em ordem cronológica) nos permitem identificar, sem grande esforço, a periodicidade das microfílarias.

Causa surpresa aliás não ter o Dr. Silva Araújo, meticoloso em suas observações, procurado obter material de uma veia ou de locais sem qualquer lesão, a fim de verificar se os vermes não estariam no próprio sangue

ao invés de nos tecidos da pele. Finalmente, durante uma sua estada em Niterói, antiga capital do Estado do Rio de Janeiro, por ocasião do inverno, quando o frio era intenso, viu ele desaparecerem por completo todas as pápulas, julgando-se então curado e encerrando suas observações a respeito de *Filaria dermatheica*.

COMENTÁRIOS

Sob o nome de *Filaria volvulus* foi o parasito da oncocercose referido pela primeira vez, por MANSON², em 1891, durante um Congresso Internacional de Higiene, realizado em Londres. O nome tinha sido dado pelo Prof. Rudolf Leuckart, da Universidade de Leipzig, que encontrara os vermes em dois tumores subcutâneos removidos de negros da Costa do Ouro (Gana), África Ocidental, por um médico missionário alemão. O achado das microfílarias de *O. volvulus* é atribuído geralmente a O'NEIL³, no ano de 1875. Ele observou-as em cortes de pele de pacientes do chamado "craw-craw", versão para o inglês do nome onomatopáico "cró-cró", usado pelos indígenas africanos para designar várias dermatoses pruriginosas. Se *Filaria dermatheica* fosse realmente *O. volvulus*, o achado do médico brasileiro coincidiria com aquele de O'Neil.

Embora alguns aspectos clínicos, como o prurido e as pápulas, a par da existência de microfílarias nas lesões, pudessem sugerir a oncocercose, não concordamos com a suposição de ter sido desta doença o caso apresentado pelo Dr. Silva Araújo, nem nos parece que *O. volvulus* tenha talvez existido no Brasil "desde essa época, ou mesmo de épocas anteriores, possivelmente devido ao intenso tráfico de escravos procedentes da África para essa zona do Continente Americano"⁴.

Em primeiro lugar, era a bancroftose seguramente uma doença então muito comum em Salvador, como o demonstram os trabalhos do Dr. O. WUCHERER (1820-1873)^{5, 6}. Sua primeira informação a respeito data de 1868⁵. Examinando sistematicamente a urina de hematóricos, à procura de ovos de *Schistosoma hematobium*, encontrou, em agosto de 1866, na urina de uma mulher com hematoquilia, "vermes filiformes", cuja identidade não pôde estabelecer. Em fins de 1869, já subia a 31 o número de casos de doença, por ele observados ou dos quais tivera notícia⁶. No mesmo ano, remeteu ao Prof. Leuckart alguns exemplares que coletara, "em filtro", da urina de um paciente hematórico; como resposta recebeu a afirmativa de serem eles apenas embriões de um nematóide ainda desconhecido, provavelmente da família *Strongylides*.

Wucherer supunha que as formas adultas correspondentes aos embriões se alojassem nos rins. As microfílarias, apesar de desconhecida a espécie, passaram a ser chamadas

na Bahia de filárias de Wucherer ou filárias Wuchereri, como se pode ler em trabalhos de SILVA LIMA^{11, 12}, publicados em 1877.

Em 1878, PETERSON e HALL⁴ efetuaram o primeiro inquérito sobre a incidência da filariose entre 309 habitantes de Salvador, Bahia, encontrando 8,4% de portadores de microfílarias no sangue.

Morreu Wucherer em 1873. Um ano antes, na Índia, Lewis descobrira as microfílarias no sangue periférico. É evidente que o Dr. Silva Araújo, ao publicar a memória sobre *Filaria dermatemica* ainda não tomara conhecimento do achado de Lewis. Por outro lado, estranhamente, deixou de mencionar a filária de Wucherer na classificação das filárias conhecidas na época. Não se pode acreditar que ele ignorasse os diversos artigos que o Dr. Wucherer escrevera a respeito, em 1868 e 1869. Em suas anotações e comentários a respeito da "Memória sobre a hematuria chylesa ou gordurosa dos países quentes" de Crevaux, em 1876, assim se pronuncia o clarividente DR. SILVA LIMA¹⁰ a páginas 104 e 105:

"O segundo facto, succedido pouco tempo depois, é singularmente semelhante ao precedente pelas condições em que foi encontrada também uma filaria, igualmente microscópica; e serviu de assumpto a um livro publicado n'esta cidade. em fins do anno passado, pelo Sr. Dr. Silva Araujo, sob o titulo — *Memoria sobre a Filariose, ou a molestia produzida por uma nova especie de parasita cutaneo.*"

"Vemos aqui a mesma erupção analoga à sarna, e as mesmas papulas contendo um animalculo vivo, de aspecto, configuração e dimensões semelhantes ao do *craw-craw* d'África, e ao descoberto ha mais de nove annos na Bahia por Wucherer, que o autor não menciona em parte alguma do seu trabalho, aliás de notavel erudição."

"O Sr. Dr. Silva Araujo refere um caso unico, no qual observou pela primeira vez, uma filaria viva no sangue extrahido de uma papula dilacerada, em 5 de Fevereiro do anno passado; e continuou a encontrar outras muitas identicas (em uma occasião cerca de 50 em uma só lamina!) nos mezes subsequentes, até fins de Maio."

"Não hesita o nosso jovem collega em considerar nova a especie do parasita, e dar tambem denominação egualmente nova á molestia cutanea com a qual o viu coincidir. É á experiencia futura, propria ou alheia, derivada de novos estudos em casos da mesma natureza que, pertence corrigir ou confirmar a parte nosologica do seu curioso trabalho n'aquillo que ella tem de provisório, visto que, por emquanto, assenta em um facto unico."

"Da mesma sorte que nos casos do Dr. O'Neil, não é para mim questão resolvida se a *Filaria dermatemica*, (nome dado pelo Sr. Dr. Araujo ao seu nematoide) não é a mesma *Filaria sanguinis hominis* (denomina-

ção provisoria proposta por Lewis), e isto não só pela similhaça dos caracteres principaes d'estes animalculos, como tambem por que foi sempre em uma gotta de sangue dos capillares cutaneos que o autor da Memoria sobre a *Filariose* achou o seu durante os longos e pacientes estudos a que se entregou."

Em segundo lugar, jamais voltou o Dr. Silva Araújo a mencionar, em trabalhos posteriores sobre a Filariose, o nome de *Filaria dermatemica* o que, implicitamente, mostra ter ele reconhecido a identidade desta espécie com a filaria do Wucherer. Assim, dois anos depois da Memória, em trabalho aparecido na Gazeta Médica da Bahia⁸, referiu ele o descobrimento de *Wuchereria filaria* em um paciente com erisipela do escroto e hematoquilúria. Este paciente também apresentava uma dermatose que tinha, segundo o Dr. Silva Araújo, "toda a analogia com a que eu descrevi sob a denominação de filariose e John O'Neil com o título vulgar na África de *craw-craw*". No mesmo artigo evidencia-se que a comunicação de Cobbold sobre o descobrimento de *Filaria bancrofti* (Bancroft conseguiu a primeira fêmea da espécie, em 1876, de um abscesso linfático no braço), já era conhecida na Bahia. Justificando a pesquisa dos vermes no sangue da veia (o que não fizera anteriormente), diz o Dr. Silva Araújo: "Por esse tempo, publicou na Gazeta Médica da Bahia n.º 9, de setembro último, o ilustrado clinico desta Capital, o Dr. Silva Lima, um importante artigo, noticiando o descobrimento por Bancroft, na Austrália, do representante adulto das filárias microscópicas do sangue".

Há ainda uma outra passagem muito importante no citado trabalho: quando as preparações com as microfílarias (obtidas da linfa escrotal do paciente) foram mostradas ao Dr. Silva Lima, este declarou "não encontrar diferença entre ele (o verme), o da quilúria e hematúria, e o de Lewis, achado na Índia, e que na Europa lhe fora mostrado no Hospital Nettlely. Muitos anos depois, em 1891, assim se expressou o próprio DR. SILVA LIMA¹³: "O Dr. Silva Araújo... publicou, cremos que em 1875, uma memória sobre um hematozoário que ele denominou *Filaria dermatemica*, por havê-la encontrado no sangue extraído de pápulas de uma erupção cutânea parecida com o *craw-craw*. Supõe ele então ser um parasito adulto o hematozoário encontrado; veio, porém, mais tarde a reconhecer que não era outro senão a microfílaria de Wucherer e Lewis. Mais tarde, na Gazeta Médica (da Bahia) de novembro de 1877, refere o mesmo Dr. Silva Araújo um curiosíssimo caso em que se achavam associados o *craw-craw*, a quilúria e o linfo-escroto. Havia microfílarias no sangue, na linfa do escroto e na urina, mas não foi mencionada mais do que uma espécie de embriões". Na verdade, quanto ao achado de microfílarias no sangue, houve engano de Silva Lima, pois esse achado só aconteceu em 1878, em outro paciente de Silva Araújo, objeto de nova publicação⁹ intitulada "A *Filaria wuchereri* no sangue".

Incidentalmente. o termo *Wuchereria*, mais tarde usado para designar o gênero da filária de Bancroft, aparece pela primeira vez nesse trabalho do Dr. Silva Araújo sem, no entanto, uma clara proposição. E, logo no ano seguinte, em outro artigo, voltou ele a empregar a designação *Filaria wuchereri*, proposta formalmente por SILVA LIMA¹¹.

Por último, se não bastassem os fatos acima apontados, temos mais uma prova do que *Filaria dermatemica* eram apenas os embriões de *W. bancrofti*, na palavra do DR. PEDRO SEVERIANO MACALHÃES¹, da Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro. Em um artigo sobre a filária de Wucherer, publicado em 1887, quando o Dr. Silva Araújo já havia se transferido da Bahia para aquela cidade, diz ele, ao fazer o histórico da doença: "um ano mais tarde, fevereiro de 1875, aparece no "Lancet" o escrito de O'Neil sobre o *craw-craw*, provável manifestação cutânea da filaríose de Wucherer, descrita pouco tempo depois pelo Dr. Silva Araújo, sob o nome de Filaríose, Bahia, 1875. Desconhecendo então a identidade do nematóide e da filária de Wucherer, chamou-o de *Filaria dermatemica*, querendo assim indicar o seu suposto habitat,

guiando-se pela afecção cutânea em que encontrara o vermiculo". E, mais adiante ao comentar as várias denominações dadas à filária de Wucherer: "As denominações — *Filaria dermatemica* (Silva Araújo) e *Trichina cystica* (Salisbury) — não receberam sanção; supunha erroneamente representarem, o primeiro, estado adulto completo, o segundo, espécie determinada antes de conhecer o perfeito desenvolvimento".

O Dr. Pedro Magalhães foi um grande estudioso da filaríose no Brasil, devendo-se a ele o reconhecimento da existência de uma bainha na filária de Wucherer (1879), o que permitiu estabelecer definitivamente sua identidade com a *Filaria sanguinis hominis*, de Lewis.

Quanto à bancroftose na cidade de Salvador, onde o índice de microfilaremia no início deste século era ainda bastante elevado (cerca de 10%), caminha ela hoje para a total extinção. Em 1951, PESSOA & ANDRADE⁵ encontraram um índice de 4,6% em 934 pessoas mas, no grande inquérito levado a cabo por RACHOU⁶, nos anos de 1954 e 1955, compreendendo 20.138 habitantes, apenas 79 pessoas apresentaram microfilarías no sangue, o que dá um índice de 0,4%.

RIALAG/478

CORRÊA, M.O.A. & MORAES, M.A.P. — *Filaria dermatemica* and oncocercosis. (Oncocercosis was discovered in Brazil, in 1875). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):79-83, 1979.

SUMMARY: In 1875, Silva Araujo, a Brazilian doctor, observed some microscopic filarial worms in his own blood. He called them *Filaria dermatemica*, because the blood specimen had been obtained from cutaneous lesions. The worms were microfilariae of *Wuchereria bancrofti*, at that time, had a wide distribution in Salvador (the city where Silva Araujo lived), in the state of Bahia, Brazil. Although suspicion that *Filaria dermatemica* would be microfilariae of *Onchocerca volvulus* was raised in 1976, there is no doubt that Silva Araujo and his contemporaries had recognized the worms as the microfilariae of Bancroft's filaria, as early as 1877 (two years before description of the new species).

DESCRIPTORS: filariasis; onchocerciasis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MAGALHÃES, P.S. — Contribuição para o estudo da filaríose de Wucherer e do respectivo parasito. *Rev. Cursos prat. teóricos Fac. Med. R. Janeiro*. 3(3):133-214, 1887
2. MANSON, P. — The geographical distribution, pathological relations, and life history of *Filaria sanguinis hominis diurna* and of *Filaria sanguinis hominis persians*, in connection with preventive medicine. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF HYGIENE AND DEMOGRAPHY, 7.^o, London, 1891. *Transactions*. London, 1892-1893.
3. O'NEIL, J. — On the presence of a filaria in "craw-craw". *Lancet*, 1:265-6, 1875.
4. PETERSON, J.L. — Fatos relativos à filaríose. *Gaz. Med. Bahia*, 10(12):529-36, 1878.

5. PESSOA, S.B. & ANDRADE, Z.A. — Alguns dados sobre a incidência da filária *Wuchereria bancrofti* na cidade de Salvador, Bahia. *O Hospital*, 37:593-8, 1950.
6. RACHOU, R.G. — Distribuição geográfica das filarioses humanas no Brasil. *Rev. bras. Malariol.*, 9:78-100, 1957.
7. SILVA ARAÚJO, A.J.P. — *Memória sobre a Filariose ou a moléstia produzida por uma nova espécie de parasita cutâneo (Monografia)*. Bahia, Impr. Econom., 1875.
8. SILVA ARAÚJO, A.J.P. — Caso de quilúria, elefância do escroto, escroto linfático, *craw-craw* e erisipela em um mesmo indivíduo; descobrimento da *Wuchereria filaria* na linfa do escroto; tratamento pela eletricidade com excelentes resultados. *Gaz. Med.*, 9(11):492-504, 1877.
9. SILVA ARAÚJO, A.J.P. — A *Filaria wuchereri* no sangue. *Gaz. Med. da Bahia*, 10(3):106-9, 1878.
10. SILVA LIMA, J.F. — Memória sobre a hematuria chylosa ou gordurosa dos países quentes, pelo Sr. Dr. Crevaux, médico da Marinha francesa, com anotações e comentários. *Gaz. Med. Bahia*, 8(3):97-111, 1876.
11. SILVA LIMA, J.F. — Nova fase na questão da natureza verminosa da quilúria; descoberta do representante adulto da filária de Wucherer. *Gaz. Med. da Bahia*, 9(9):387-96, 1877.
12. SILVA LIMA, J.F. — Novos fatos para a história da filária de Wucherer; descobrimento da filária adulta no Rio de Janeiro; carta do Dr. Pedro Severiano Magalhães. *Gaz. Med. Bahia*, 9(12):538-46, 1877.
13. SILVA LIMA, J.F. apud MANSON, P. — A filária sanguinis hominis major e minor, duas novas espécies de hematozoários. *Gaz. Med. Bahia*, 22(10):409-26, 445-51. [Nota de rodapé na p. 447].
14. TORROELLA, J.J. — En Brasil se descubrió la Oncocercosis en 1875. *Rev. Invest. Salud Publ.*, México, 36:167-70, 1976.
15. WUCHERER, O. — Notícia preliminar sobre vermes de uma espécie ainda não descrita, encontrados na urina de doentes de hematúria intertropical no Brasil. *Gaz. Med. Bahia*, 3:97-9, 1868.
16. WUCHERER, O. — Sobre a hematúria no Brasil. *Gaz. Med. Bahia*, 4:39-40, 49-50, 61-62, 73-74, 85-86, 1869.

Recebido para publicação em 31 de outubro de 1978.

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DE SURTO DE LEPTOSPIROSE OCORRIDO NA CIDADE DO SALVADOR, BAHIA, EM MAIO E JUNHO DE 1978 *

Eulógio Moreira CALDAS **

Marilena B. SAMPAIO ***

Everaldo COSTA ****

Genaro MIRANDA ****

RIALA6/479

CALDAS, E. M.; SAMPAIO, M. B.; COSTA, E. & MIRANDA, G — Estudo epidemiológico de surto de leptospirose ocorrido na cidade de Salvador, Bahia, em maio e junho de 1978. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):85-94, 1979.

RESUMO: Durante os meses de maio e junho de 1978 foram estudados 141 pacientes do Hospital Couto Maia, em Salvador, Bahia, em relação ao surto de leptospirose então registrado. Constatou-se 76,6% de positividade, identificada através da compatibilização dos achados sorológicos, clínicos e enzimáticos. Os sorotipos mais freqüentes foram *grippityphosa*, *icterohaemorrhagiae* e *autumnalis*. A letalidade foi de 14,0%. Água, esgoto, rato, lama e lixo foram identificados como as mais prováveis fontes de infecção. Estudaram-se, ainda, diversos aspectos epidemiológicos da antroprozoose.

DESCRIPTORIOS: leptospirose (humana), Salvador, BA; epidemia de leptospirose, Salvador, BA; enchentes, Salvador, Bahia.

INTRODUÇÃO

HUBBERT *et alii*¹³ assinalam, inicialmente, dois períodos significativos no reconhecimento da leptospirose: o clínico e o bacteriológico. As primeiras observações dos sinais clínicos da doença foram realizadas entre 1870 e 1886, por WEIL²⁴ e publicadas em 1886. INADA *et alii*¹⁴ isolando, em 1916, o agente etiológico da doença descrita por Weil, deram início ao período bacteriológico.

Um terceiro período pode ser assinalado, a partir de 1948, quando o conhecimento da epidemiologia da leptospirose foi ampliado com a constatação da associação de surtos da doença, no homem, com bovinos, caninos e suínos infectados¹³. Sabe-se que o "habitat" ecológico

está diretamente associado com a ocorrência da doença em todas as espécies de vida animal, sua interação e a resultante contaminação do ecossistema.

Os estudos epidemiológicos permitiram um maior conhecimento dessa enfermidade. EDELWEISS⁹ assinala, com muita propriedade, que "mede-se, geralmente, o domínio no conhecimento de uma zoonose pelo progresso realizado na investigação epidemiológica".

O maior contingente de trabalhos sobre leptospirose, no Brasil, consiste na publicação de casos clínicos. Os estudos epidemiológicos, quase sempre, têm-se constituído de estudos retrospectivos, à base de prontuários hospitalares, ou da ocorrência de surtos. CALDAS &

* Realizado na Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA.

** Da Escola de Medicina Veterinária da UFB.

*** Do Instituto de Ciências da Saúde da UFB.

**** Do Hospital Couto Maia, Salvador, BA.

SAMPAIO⁵, em Salvador, realizaram um estudo prospectivo, em 1975, abrangendo 133 casos de pacientes hospitalares. Quanto aos surtos epidêmicos, é fato histórico haver Noguchi, em 1923, isolado a *icterohemorrhagiae* de casos de Molestia de Weil na Bahia, julgando tratar-se de casos de febre amarela^{18, 20}. Outro equívoco levou SEFTON²⁰ a atribuir à icterícia epidêmica casos de leptospirose observados por ele, em Porto Alegre, em 1928. Diversos surtos epidêmicos, relacionados na tabela 6, foram estudados no Brasil, tendo a associação hídrica sido estabelecida em quase todos.

Em 1978, após abundantes chuvas ocorridas em Salvador, nos meses de maio e junho, ocorreu um surto de leptospirose, com o registro de 108 casos, que constituem o material do presente estudo, onde se procura também comparar os seus resultados com os do estudo prospectivo realizado em 1975⁵.

MATERIAL E MÉTODOS

1. O material consistiu de soro sanguíneo de 124 pacientes do Hospital Couto Maia, em Salvador; de 17 outros pacientes estudados não foi possível obtê-lo.

2. Aos que reagiam a título de 1:200 ou mais procurava-se compatibilizar o diagnóstico sorológico com os achados clínicos e laboratoriais do paciente; 13 pacientes dos quais não foi possível obter soro sanguíneo mas que apresentavam claras evidências clínicas e laboratoriais foram, também, considerados positivos.

3. Aos pacientes considerados positivos era aplicado um questionário para obtenção de dados epidemiológicos.

4. O método adotado foi o de soroaglutinação microscópica em campo escuro com antígenos vivos de vinte e uma cepas de leptospiros, cultivadas em meio EMJH* e enriquecidas com meio Leptospira Enrichment*, e usadas entre os 5.º e 7.º dias de crescimento.

5. Dos 124 soros investigados, 112 foram processados no laboratório de leptospirose do INCISA/UFBa, por um dos autores deste trabalho (MBS) e 12 o foram no Laboratório de Leptospirose do LACEM, pela Farmacêutica Elisabete Rocha dos Santos, usando apenas o método de triagem, com a cepa Patoc 1; três desses foram, depois, trabalhados com a bateria completa do INCISA/UFBa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme apresenta a tabela 1, foram investigados 141 pacientes hospitalares, com 76,6% de resultados positivos. A positividade era assegurada através da compatibilização dos achados sorológicos, clínicos e enzimáticos, à exceção de 13 casos em que não foi possível realizar a soroaglutinação.

A positividade no presente estudo foi mais elevada que os 35,4% da investigação de AZEVEDO & CORRÊA³ em 1966, os 58,2% registrados por CORRÊA *et alii*⁷ em 1970 e os 23,2% assinalados por OLIVEIRA *et alii*¹⁶ em 1975, todos em surtos epidêmicos, em Recife.

Sexo — A positividade entre pacientes do sexo masculino foi de 82,2% contra 58,8% no sexo feminino, diferença estatisticamente significativa ($P < 0,01$). No que tange ao número total de positivos, 81,5% pertenciam ao sexo masculino, enquanto 18,5% eram do sexo feminino.

TABELA 1

Pacientes hospitalares investigados, positividade, letalidade e precipitação pluviométrica, distribuídos segundo os meses de maio e junho, Salvador, Bahia, 1978

Mês	Pacientes investigados					Precipitação pluviométrica mm
	N.º	Positividade		Letalidade		
		N.º	%	N.º	%	
Maio	92	76	82,6	10	13,1	360,0
Junho	49	32	65,3	5	15,6	459,6
Total	141	108	76,6	15	13,9	—

* Difco Laboratories, Detroit, Michigan.

A maior frequência do sexo masculino é uma constante em estudos epidemiológicos dessa antroponose ^{1, 3, 5, 8, 21, 22} refletindo a possibilidade de maior risco de contrair a enfermidade.

Idade — A doença foi constatada em pacientes de 02 a 79 anos, sendo que a faixa etária 20-44 anos conteve 62,7% da positividade. A média de idade entre os positivos foi de 35,6 anos \pm 15,6 anos, enquanto que entre os negativos foi de 34,1 anos \pm 17,0 anos, não havendo significância estatística ($P > 0,05$).

A maior frequência da leptospirose tem sido registrada no adulto jovem ^{3, 5, 8, 21}, refletindo, certamente, "a composição etária da população efetivamente exposta a risco" ²¹.

Casos fatais — A letalidade foi de 14,0%; letalidade menos elevada (3,3%) foi observada por AZEVEDO & CORRÊA ³, em Recife, em 1966 e por CALDAS & SAMPAIO ⁵, em Salvador, em 1975 (7,5%); letalidade mais elevada (24,4%) foi observada por Miranda, no Paraná (1946) ³.

A faixa etária 40-79 anos encerrou 80,0% dos óbitos; diversas investigações têm assinalados óbitos em pacientes de leptospirose acima dos 35 anos ^{3, 5}, concluindo-se que a leptospirose, conquanto mais freqüente no adulto jovem, é mais letal para o adulto em idade mais avançada ⁵.

Procedência — A distribuição dos 108 casos mostrou como mais freqüentes os bairros de Retiro (10,3%), Liberdade (8,3%), Cosme de Farias (6,5%), Nordeste de Amaralina e Itapoan (5,5%), entre outros com menores percentuais. Esses bairros, muito populosos e com subcondições de saneamento básico e deficiente coleta de lixo, refletem as precárias condições higiênicas de grande parte da população das áreas marginais da cidade.

Profissão/Ocupação — Pedreiro, empregada doméstica, dona de casa e vendedor ambulante foram as ocupações mais freqüentes, na casuística em estudo, conforme se constata na tabela 2.

A predominância, em suas casuísticas, de profissão de mão-de-obra não qualificada e baixo nível de remuneração tem sido constatada em diversos estudos ^{5, 11, 21}, observando-se, segundo acentua SAN JUAN ¹⁹, que a maioria dos casos de leptospirose advém dessa vasta classe social, o que pode ser constatado, em escala ascendente, nos Hospitais Gerais da Guanabara e das grandes cidades brasileiras.

Entre os casos fatais, as ocupações mais freqüentes, neste estudo, foram pedreiro e vigilante, com 13,4%, cada.

Prováveis fontes da infecção — Conforme o demonstra a tabela 3, as mais prováveis fontes da infecção foram água, esgoto, rato, lama e lixo.

Conforme foi acentuado em estudo anterior ⁵, a ordem em que esses elementos são citados

em diversas investigações epidemiológicas está relacionada, certamente, com as diversas condições ecológicas, de higiene, saneamento básico e regularidade na coleta de lixo, dos diversos agrupamentos urbanos, fatores estes que, em sua maioria, muito contribuem para a proliferação de ratos na cidade do Salvador. PACKCHANIYAN & SONNIER ¹⁷ afirmam que, em média, 20,0 a 25,0 dos ratos, em todo o mundo, são possíveis portadores de leptospirosas. MAILLOUX ¹⁵, em 1970, encontrou 43,0% de ratos infectados, no Marrocos. FORATTINI ¹⁰, em 1947, encontrou 31,4% de ratos infectados, em S. Paulo, enquanto GUIDA & MONICI ¹² constataram, em ratos, nas proximidades do rio Tietê, em S. Paulo, positividade de 59,7. Em Salvador, ANDRADE & OLIVEIRA ², em 1954, encontraram 30,0% de ratos reagente-positivos para leptospirosas.

A água tem um papel primordial na transmissão das leptospiroses, já que a maior parte das contaminações ocorre através dela ²³. Conforme se vê na tabela 6, a grande maioria dos surtos de leptospirose, no Brasil, está associada a enchentes; em Salvador, nos dois meses do estudo, a precipitação pluviométrica foi de 819,6 mm (tabela 1). SILVA *et alii* ²¹ assinalaram, na Guanabara, o rato e as enchentes como as mais prováveis fontes da infecção.

As elevadas precipitações pluviométricas, em Salvador, associadas à deficiente rede pluvial em diversos bairros da Capital, concorrem acentuadamente para a difusão da leptospirose, observação já feita em 1975 ⁵.

Dias entre o aparecimento dos primeiros sintomas e a data da hospitalização — O período de 04-09 dias enfeixou 86,1% das observações, sendo a mediana igual a 07 dias; em estudo anterior, realizado durante o ano de 1975, em Salvador ⁴, os autores encontraram uma mediana de 6,9 dias, sendo que o período de 04-09 dias encerrava 77,1% das observações.

Período de incubação — O período de incubação em 25 casos em que foi possível estabelecer esse achado variou entre 02 e 15 dias, sendo o período médio igual a 05 dias; em estudo anterior já aludido ⁴ os autores encontraram uma variação entre 01 e 16 dias, com um período médio de 08 dias.

Dias de doença em que ocorreu o óbito — 73,3% dos óbitos ocorreram entre 07-14 dias de doença, sendo a mediana igual a 12 dias; no estudo anterior ⁴, entre 10-15 dias ocorreram 50,0% dos óbitos, sendo a mediana igual a 15 dias. Segundo CASTRO ⁶, o comprometimento renal, de intensidade máxima na segunda semana de doença, é o responsável pela maioria dos óbitos.

Dias de hospitalização — 48,3% dos pacientes de leptospirose estiveram hospitalizados entre 11-15 dias, na forma constante da tabela 4.

Em estudo realizado pelos autores (1975) ⁴, 35,4% dos pacientes estiveram hospitalizados

TABELA 2

Pacientes hospitalares investigados, positividade para leptospirose e casos fatais distribuídos segundo a profissão/ocupação, Salvador, Bahia, maio e junho, 1978

Profissão/Ocupação	Pacientes investigados					
	N.º	Positividade			Letalidade	
		N.º	%		N.º	%
			em linha	do total		
Pedreiro	26	22	84,6	20,4	2	13,37
Empregada doméstica	16	14	87,5	12,9	1	6,66
Dona de casa	10	7	70,0	6,5	1	6,66
Vendedor ambulante	9	6	66,6	5,5	—	—
Vigilante	8	5	62,5	4,6	2	13,37
Operário	7	5	71,4	4,6	1	6,66
Carpinteiro	6	5	83,3	4,6	1	6,66
Pintor	6	5	83,3	4,6	—	—
Lavrador	5	4	80,0	3,7	1	6,66
Eletricista	5	3	60,0	2,8	1	6,66
Estudante	4	1	25,0	0,9	—	—
Feirante	3	3	100,0	2,8	1	6,66
Comerciante	5	3	60,0	2,8	1	6,66
Mecânico	3	3	100,0	2,8	1	6,66
Carroceiro	3	1	33,3	0,9	—	—
Gari	3	3	100,0	2,8	—	—
Encanador	2	2	100,0	1,9	—	—
Policial	2	2	100,0	1,9	1	6,66
Outras profissões	11	8	72,7	7,5	—	—
Sem profissão (menores de 14 anos)	7	6	85,7	5,5	—	—
Total	141	108	76,6	100,0	15	100,00

TABELA 3

Prováveis fontes da infecção em 95 casos hospitalares de leptospirose, segundo os diferentes sorotipos de leptospira, Salvador, Bahia, maio e junho, 1978

Sorotipos	Prováveis fontes da infecção						Total	
	Água	Esgoto	Rato	Lama	Lixo	Não foi estabelecida	N.º	%
<i>icterohaemorrhagiae</i>	4	6	3	1	—	1	15	15,8
<i>javanica</i>	—	—	1	—	—	—	1	1,0
<i>canicola</i>	3	1	—	—	—	—	4	4,2
<i>autumnalis</i>	3	3	3	—	—	3	12	12,6
<i>grippotyphosa</i>	16	5	7	7	1	3	39	41,0
<i>patoc</i>	2	3	2	1	—	1	9	9,6
<i>grippotyphosa/autumnalis</i> *	2	1	—	—	2	—	5	5,3
<i>icterohaemorrhagiae/grippotyphosa</i> *	3	—	1	—	—	1	5	5,3
<i>grippotyphosa/canicola</i> *	1	1	1	—	—	—	3	3,1
<i>autumnalis/canicola</i> *	1	—	—	—	—	1	2	2,1
Total	35	20	18	9	3	10	95	100,0
Porcentagem	36,8	21,0	18,9	9,6	3,1	10,6	—	100,0

* Títulos iguais

CALDAS, E. M.; SAMPAIO, M. B.; COSTA, E. & MIRANDA, G. — Estudo epidemiológico de surto de leptospirose ocorrido na cidade de Salvador, Bahia, em maio e junho de 1978. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):85-94, 1979.

TABELA 4

Serotipos aglutinantes e positividade para leptospirose, distribuídos segundo o número de dias de hospitalização, Salvador, Bahia, maio e junho, 1978

Sorotipos	Casos positivos	Dias de hospitalização					Total
		1-5	6-10	11-15	16-20	21-25	
<i>icterohaemorrhagiae</i>	—	4	8	2	1	15	
<i>javanica</i>	—	1	—	—	—	1	
<i>canicola</i>	—	2	1	—	—	3	
<i>autumnalis</i>	2	4	3	1	2	12	
<i>grippotyphosa</i>	2	10	20	4	—	36	
<i>patoc</i>	—	2	3	1	—	6	
<i>grippot./autumnalis</i> *	—	1	2	1	—	4	
<i>icterohaem./grippotyphosa</i> *	—	2	1	2	—	5	
<i>grippot./canicola</i> *	—	1	2	—	—	3	
<i>autumnalis/canicola</i> *	—	—	2	—	—	2	
Total de casos	4	27	42	11	3	87 **	
Porcentagem	4,6	31,0	48,3	12,7	3,4	100,0	

* Títulos iguais.

** Não foram computados os 8 casos fatais investigados sorologicamente.

TABELA 5

Frequência de aglutinações e títulos aglutinantes frente a diferentes sorotipos, em 95 casos hospitalares de leptospirose, Salvador, Bahia, maio e junho, 1978

Sorotipos	Títulos								Aglutinações	
	1:200	1:400	1:800	1:1.600	1:3.200	1:6.800	1:12.800	1:25.600	N.º	%
<i>icterohaemorrhagiae</i>	15	19	12	10	3	5	—	—	64	33,2
<i>javanica</i>	—	1	—	—	—	—	—	—	1	0,5
<i>canicola</i>	6	8	1	—	4	—	3	1	23	12,0
<i>autumnalis</i>	11	16	5	3	—	1	—	—	36	18,6
<i>grippotyphosa</i>	6	9	18	4	15	6	1	1	60	31,0
<i>patoc</i>	7	1	1	—	—	—	—	—	9	4,7
Total	45	54	37	17	22	12	4	2	193	100,0
Porcentagem	23,3	28,0	19,2	8,8	11,4	6,2	2,1	1,0	—	100,0

CAIDAS, E. M.; SAMPAIO, M. B.; COSTA, E. & MIRANDA, G. — Estudo epidemiológico de surto de leptospirose ocorrido na cidade de Salvador, Bahia, em maio e junho de 1978. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39 (1): 85-94, 1979.

TABELA 6

Surtos epidêmicos de leptospirose registrados no Brasil de 1923 a 1978

Ano	Local e motivo	Estado	N.º de casos	Autor do estudo	Referência
1923	Pequeno surto em Vila Bela das Palmeiras, então considerado como de febre amarela (?)	Bahia	9	NOGUCHI	Sefton (1938); Magaldi (1963)
1928	Pequeno surto, em trabalhadores do porto, em Porto Alegre, então atribuído a icterícia epidêmica (?)	R. G. Sul	—	SEFTON	Sefton (1938)
1941	Após grandes inundações, Porto Alegre, abril/maio	R. G. Sul	45	CLAUSELL	Clausell (1942)
1946	Município de Imbuial, após epizootia em ratos silvestres	Paraná	180	MIRANDA	Miranda (1946)
1964	Pequeno surto em Salvador, após abundantes chuvas, em maio	Bahia	45	—	Silva (Tese, 1966); Costa (1970); Veronesi (1976)
1966	Recife, após enchentes de junho/julho	Pernambuco	181	AZEVEDO & CORRÊA	Azevedo & Corrêa (1968)
1967	Surto, com casos internados no Hospital Francisco de Castro, no Rio de Janeiro	Guanabara	104	GONÇALVES & SANTINI FILHO	Corrêa (1973)
1970	Recife, após enchentes, julho/agosto	Pernambuco	102	CORRÊA <i>et alii</i>	Corrêa, Hyakutake & Azevedo (1972)
1975	Recife, após enchentes, julho	Pernambuco	107	OLIVEIRA <i>et alii</i>	Oliveira <i>et alii</i> (1977)
1978	Salvador, após abundantes chuvas, maio/junho	Bahia	108	CALDAS <i>et alii</i>	Caldas <i>et alii</i> (1978)

CALDAS, E. M.; SAMPAIO, M. B.; COSTA, F. & MIRANDA, G. — Estudo epidemiológico de surto de leptospirose ocorrido na cidade de Salvador, Bahia, em maio e junho de 1978. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):85-94, 1979.

entre 11 e 15 dias, enquanto que 33,8% deles estiveram hospitalizados entre 06-10 dias. A observação, nos dois trabalhos, permite assumir que o paciente de leptospirose, em sua grande maioria, permanece hospitalizado duas semanas.

Sorotipos aglutinantes — Na forma apresentada na tabela 5, nos 95 casos de leptospirose ocorreram 193 aglutinações, sendo o *icterohemorrhagiae* o sorotipo mais freqüente. Entretanto, quanto às aglutinações em títulos mais elevados, os mais freqüentes foram *grip-*

potyphosa, *icterohemorrhagiae* e *autumnalis*, conforme consta da tabela 3.

Quanto aos casos fatais, os sorotipos mais freqüentes foram *icterohemorrhagiae*, *autumnalis* e *grippotyphosa*; em estudo anterior⁴, os sorotipos mais letais foram *autumnalis*, *icterohemorrhagiae* e *bataviae*. ALSTON & BROOM¹ citam como mais letais os sorotipos *icterohemorrhagiae*, *pyrogenes* e *bataviae*.

A tabela 6 apresenta os surtos epidêmicos de leptospirose registrados no Brasil, de acordo com a literatura disponível.

RIALAG/479

CALDAS, E. M.; SAMPAIO, M. B.; COSTA, E. & MIRANDA, G. — Epidemiologic study of the leptospirosis outbreak occurring in Salvador, Bahia, in May and June, 1978. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):85-94, 1979.

SUMMARY: During May and June of 1978, 108 of 141 patients were identified as cases of leptospirosis by serological and clinical examinations and enzymatic tests. The mortality was 14% and the most frequent serotypes were *grippotyphosa*, *icterohaemorrhagiae* and *autumnalis*. Contaminated water, sewage, mud and garbage were apparently the main sources of infection.

DESCRIPTORS: leptospirosis (human) in Salvador, Bahia; leptospirosis outbreak; floods, Salvador, Bahia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALSTON, J. M. & BROOM, J. C. — *Leptospirosis in man and animals*. Edinburg, Livingstone, 1958. 367 p.
2. ANDRADE, Z. & OLIVEIRA, J. C. — Estudo sobre a leptospirose na Bahia. *Bol. Fund. Gonçalo Muniz*, 3:1-28, 1954.
3. AZEVEDO, E. & CORRÊA, M. O. A. — Considerações em torno da epidemia de leptospirose na cidade de Recife, em 1966. Aspectos epidemiológicos, laboratoriais e clínicos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 28:85-111, 1968.
4. CALDAS, E. M.; COSTA, E. & SAMPAIO, M. B. — Leptospirose na cidade do Salvador (Brasil). Alguns aspectos clínicos e laboratoriais. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 20:164-76, 1978.
5. CALDAS, E. M. & SAMPAIO, M. B. — Alguns aspectos soro-epidemiológicos da leptospirose em Salvador — Bahia. *Rev. méd. Bahia*, 23:90-106, 1977.
6. CASTRO, R. M. — Leptospiroses. *Rev. Roche*, 19:150-9, 1959; 19:182-91, 1959 e 19:217-22, 1959.
7. CORRÊA, M. O. A.; HYAKUTAKE, S. & AZEVEDO, R. — Considerações sobre novo surto epidêmico de leptospiroses na cidade do Recife em 1970. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 32:83-7, 1972.
8. COSTA, E. A. *et alii* — Aspectos epidemiológicos da leptospirose em Salvador, Bahia. *Bol. epidemiol.*, 2:63-7, 1970.
9. EDELWEISS, E. L. — Leptospiroses no Rio Grande do Sul. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 29/30:5-11, 1969/70.
10. FORATTINI, O. P. — Presença de leptospiroses nos ratos da cidade de São Paulo. *An. Fac. Med. Univ. S. Paulo*, 23:5-27, 1947.
11. GONÇALVES, A. J. R.; SANTINO FILHO, F.; QUAGLIOTA JR., R. & SUZUKI, L. E. — Formas graves do síndrome de Weil. *Rev. Soc. bras. Med. trop.*, 3:95-100, 1969.
12. GUIDA, V. O. & MONICI, N. — Incidência de leptospiroses em animais domésticos em S. Paulo, Brasil. *Arq. Biol. Tecnol.*, 7:9-20, 1975.

CALDAS, E. M.; SAMPAIO, M. B.; COSTA, E. & MIRANDA, G. — Estudo epidemiológico de surto de leptospirose ocorrido na cidade de Salvador, Bahia, em maio e junho de 1978. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(1):85-94, 1979.

13. HUBBERT, W. T.; McCULLOCH, W. F. & SCHNURRENGER, P. R. — *Diseases transmitted from animals in man*. Springfield, Ill., Charles C. Thomas, [s.d.] p. 436-462.
14. INADA, R.; IDO, Y.; HOKI, R. KANEKO, R. & ITO, H. — The etiology, mode of infection, and specific therapy of Weil's disease (*Spirochaetosis icterohaemorrhagica*). *J. exp. Med.* 23:377-402, 1916.
15. MAILLOUX, M. — Quelques aspects épidémiologiques des leptospiroses au Maroc. Enquête sur les rats. Conditions particulières à Meknès. *Bull. Soc. Path. exot.*, 63:547-57, 1970.
16. OLIVEIRA, V. J. C.; ROCHA, J. M. B.; SILVA, G. B. & CABRAL, C. L. N. — Considerações sobre novo surto epidêmico de leptospirose humana na Grande Recife, Brasil, em 1975. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 37:33-6, 1977.
17. PACKCHANIAN, A. & SONNIER, A. B. — Incidence of leptospirosis in man and rodents in Galveston. *Texas Rep. Biol. Med.*, 6:455-80, 1948.
18. PESSÓA, S. B. & MARTINS, A. V. — *Parasitologia médica*. 9a ed. Rio de Janeiro, GB, Guanabara Koogan, 1974. p. 394-5.
19. SAN JUAN, F. — A leptospirose humana no Brasil. *Trib. méd.*, 355:22-6, 1969.
20. SEFTON, B. — Leptospirose ictero-hemorrágica. (Subsídio aos estudos feitos no Brasil). *Rev. méd. Bahia*, 6:63-74, 1938.
21. SILVA, A. R. M. B.; QUADRA, A. A. F.; QUADRA, J. A. F. & CORDEIRO, H. A. — Aspectos epidemiológicos das leptospiroses humanas no Grande Rio, Brasil. *Bol. Of. sanit. pan-am.*, 77:122-34, 1974.
22. SILVA, R. M. — *Estudo clínico e laboratorial da leptospirose icterohaemorrhagiae (Doença de Weil)*. Bahia, 1966. 85 p. [Tese Livre-Doc. — Faculdade de Medicina da Bahia].
23. VERONESI, R. — *Doenças infecciosas e parasitárias*. 6a ed. Rio de Janeiro, RJ, Guanabara Koogan, 1976. 1149p.
24. WEIL, A. — Veber eine eigenthumbche mit Miltztumor, icterus und nephritis inhergehende, acute infekctions krankheit. *Dtsch. Arch. klin. Med.*, 30:209, 1886.

Recebido para publicação em 31 de outubro de 1978.