



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

ISSN0073-9855

RIALA 6

VOLUME 46

NÚMERO 1/2

JUN./DEZ., 1986



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

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

REDATOR RESPONSÁVEL

PEDRO PAULO CHIEFFI
Diretor do Instituto Adolfo Lutz

COMISSÃO DE REDAÇÃO

MARCELO OSWALDO ALVARES CORREA, *Presidente*
ELISEU ALVES WALDMAN
ELZA SCHWARZ GASTALDO BADOLATO
LUÍS FLORENCIO DE SALLES GOMES
MYRNA SABINO
NEUS PASCUET PREGNOLATTO
ODAIR ZENEBO
PEDRO PAULO CHIEFFI
ROBERTO A. PINTO PAES
SARA TETNER BURSTEIN, *Secretário*

REDATOR-SECRETÁRIO

DÉBORA DOMINGUES ESTRELLA REBOCHO

Endereço/address

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

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

(*)

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. (Secretaria de Estado da Saúde) São Paulo, SP — Brasil, 1941 —	
1941-1985, 1-45	
1986, 46(1/2)	
ISSN 0073-9855 RIALA6	CDD _{1s} 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 AGRINDEX, Analytical Abstracts, Bibliografia brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia, Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Excerpta Medica, Food Science and Technology Abstracts, Index Medicus Latino-americano, Microbiology Abstracts, Sumários Correntes brasileiros, Tropical Diseases Bulletin, Virology Abstracts e outros.

REVISTA
DO
INSTITUTO
ADOLFO LUTZ

ISSN 0078-9855
RIALA6

Rev. Inst. Adolfo Lutz, 46(1/2):1-121, jun./dez., 1986

SUMÁRIO/CONTENTS

- 603 Primeiro encontro de *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) no Município de Taubaté, Vale do Paraíba, Estado de São Paulo
First identification of Biomphalaria straminea (Dunker, 1848) in the county of Taubaté, Vale do Paraíba, State of São Paulo, Brazil
Luiz dos SANTOS; Ioli Bueno COSTA & Carlos H. de Paula LICO .. 1-4
- 604 Estudo das variações do coeficiente fenólico e diluição de uso de diversos tipos de desinfetantes aplicados normalmente na desinfecção hospitalar
A study of variations of the phenol coefficient and use dilution of various disinfectants commonly employed in hospitals
Walter ALVES; Ileana Edelweis Margaritelli da FONSECA & Otilia Ferreira NOVO 5-9
- 605 Subsídios para o estabelecimento de metodologia para o controle de corantes naturais em alimentos
A contribution to the method for controlling natural dyes in foods
Helena Yuko YABIKU; Mickiko Yamasaki TAKAHASHI; Mirian S.F. CARUSO & Cristian A.S. MENEZES 11-18
- 606 Instituto Adolfo Lutz (1940-1984), desafios de um laboratório de Saúde Pública
Instituto Adolfo Lutz (1940-1984), the challenges of a Central Public Health Laboratory
Pedro Paulo CHIEFFI & Eliseu Alves WALDMAN 19-25
- 607 Experiências da Rede de Laboratórios do Instituto Adolfo Lutz em época recente (período 1976-1984): subsídios para a elaboração de novas diretrizes para o Sistema Estadual de Laboratórios de Saúde Pública
Experiences with the Instituto Adolfo Lutz network of laboratories in recent time (1976 to 1984): subsidies for the planning of new guidelines for the State of São Paulo System of Public Health Laboratories
Eliseu Alves WALDMAN & José Benício N. MIRANDA 27-43
- 608 Técnicas cromatográficas para a diferenciação de óleos essenciais cítricos de limão siciliano e Tahiti
Chromatographic techniques for differentiation of essential oils of Sicilian lemon and Tahiti lemon
Helena Yuco YABIKU & Walkyria H. LARA 45-51
- 609 Ácidos graxos do leite materno e do colostro de mães brasileiras
Fatty acids in milk and colostrum, from Brazilian nursing women
Maria Elisa Wohlers de ALMEIDA; Franca DURANTE; Elza Schwarz Gastaldo BADOLATO & Andrea de Brito CAPARROZ 53-58

610	Rastreamento de alterações morfológicas atribuíveis a clamídias em 30.000 amostras de esfregaços vaginais <i>Cytological alterations due to chlamydial infections in 30.000 vaginal smears</i> Evandro Pimenta de CAMPOS; Marina Yoshié Sakamoto MAEDA; Lai Wun Song SHIH; Genival Reynaldo PACHECO & Venâncio Avancini Ferreira ALVES	59-64
611	Ocorrência de aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona em milho de Minas Gerais. Parte 1 <i>Occurrence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in corn grain from Minas Gerais state, Brazil. Parte 1</i> Myrna SABINO; Guilherme PRADO & Gecernir COLEN	65-71
612	Determinação do teor de suco de tomate natural em suco de tomate industrializado <i>Determination of natural tomato juice in industrialized tomato juice</i> Emiko Ikejiri INOMATA; Myrna SABINO & Alice Haruko ICHIKAWA	73-79
613	Isolamento de princípios ativos da própolis por cromatografia em papel bidimensional e doseamento espectrofotométrico <i>Isolation of active principles of propolis through bidimensional paper chromatography and spectrophotometric determination</i> Telma Teixeira FRANCO & Alberto Keidi KUREBAYASHI	81-86
614	Pesquisa de toxina paralisante dos moluscos em pescado <i>Search for paralytic shellfish poison in fish</i> Leda C.A. LAMARDO; Dilma Scala GELLI & Myrna SABINO	87-90
615	Associação de sulfametoxazol e trimetoprim: avaliação em diferentes formas farmacêuticas <i>Association of sulphamethoxazole and trimethoprim: determination in various pharmaceutical products</i> Maria Auxiliadora CHAVES; Amélia Shioko AKATUKA & Mariangela Tírico AURICCHIO	91-93
616	Encefalite pelo vírus Rocio <i>Rocio virus encephalitis</i> Oscar de Souza LOPES	95-101
617	<i>Staphylococcus aureus</i> produtor de termonuclease em alimentos <i>Thermonuclease production by Staphylococcus aureus from foods</i> Dilma Scala GELLI & Maria Conceição MARTINS	103-109
618	Sardinhas inteiras, salgadas e prensadas: condições higiênico-sanitárias, estado de conservação e valor nutritivo <i>Whole salted and pressed sardines: hygienic-sanity conditions, preservation and nutritional value</i> Neusa Vitória Valério SILVEIRA; Claydes de Quadros ZAMBONI; Miyoko JAKABI & Thereza Yalue ANRAKU	111-116
	ÍNDICE DE AUTOR	117
	ÍNDICE DE ASSUNTO	119
	SUBJECT INDEX	121



WALDOMIRO PREGNOLATTO

Extinguiu-se, em 23 de junho de 1986, um facho de saber e de solidariedade humana para luzir em outra dimensão, na eternidade.

Nasceu Waldomiro Pregnolato em 14 de junho de 1918, em Campinas. Era filho de Pascoa Perugini Pregnolato e de Erminio Pregnolato. Foi casado com Maria Aparecida Pedrosa Pregnolato, formada em Letras. Deixou seis filhos: Cristina Maria, assistente social; Sergio e Fernando, químicos; Beatriz, bióloga, e Adriana e Ricardo, acadêmicos, além de quinze netos.

Foi personalidade eclética desde a mocidade, o que lhe granjeou sempre o prestígio e a amizade ímpares entre os colegas, professores, superiores e subordinados hierárquicos, aliados à estima de que são merecedoras as almas lhanas e bem-formadas, mercê de suas excelsas qualidades. Ainda nos bancos acadêmicos, dedicou-se intensamente, a par dos estudos, a atividades esportivas e recreativas, tendo sido Diretor do Centro Acadêmico da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, procedendo à integração entre este Centro e o Centro Acadêmico XI de Agosto, da Faculdade de Direito da USP. Praticando com sucesso o basquetebol, o voleibol e o futebol, não abdicou das práticas de exímio enxadrista. Colaborou intensamente na organização das disputas esportivas entre a Faculdade de Farmácia e Odontologia e a Faculdade de Filosofia (FOFI), ambas da USP. Em 1941, diplomou-se em Ciências Químicas pela Faculdade de Ciências e Letras da USP e, em 1946, doutorou-se pela mesma faculdade, tendo defendido tese sobre "Estudo da possibilidade da substituição isomorfa dos halógenos e grupos pseudo-halógenos na orto e paraposição do ácido benzóico".

Iniciou, em 1942, suas atividades profissionais no Instituto Adolfo Lutz, na Seção de Química Aplicada. Em 1944, foi designado para exercer, neste mesmo Instituto, a Chefia da Seção de Química Biológica e Espectrografia, então criada. Em 1970, passou a dirigir o Serviço de Química Aplicada e, em 1975, a Divisão de Bromatologia e Química, até ocupar a posição de Diretor Geral, permanecendo no cargo até julho de 1985, data de sua aposentadoria. Neste Instituto, além das atribuições inerentes aos diversos cargos ocupados, foi coordenador de cursos de Bromatologia para técnicos de nível superior, do Ministério da Saúde; redator-chefe da Revista do Instituto Adolfo Lutz, e um dos coordenadores das "Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, v. 1, métodos químicos

e físicos para análise de alimentos", 1.^a, 2.^a e 3.^a edições. No campo social, incentivou a criação da Associação dos Funcionários do Instituto Adolfo Lutz, precursora da ASIAL, e por aquela concorreu no campo esportivo, reorganizando seu time de futebol, que se encontrava desativado.

Não se limitou ao exercício de suas funções no IAL.

Foi consultor da OMS para Alimentos e Medicamentos e projetou e organizou o Laboratório de Referência para Alimentos, junto ao Instituto de Nutrición Centro América y Panama, na Guatemala.

De 1965 a 1970, foi representante oficial do Governo do Estado de São Paulo, na OPAS, e assessor nas Reuniões de Ministros de Centroamérica e Panamá. Em 1966, coordenou um grupo de trabalho que elaborou 420 Normas de Qualidade de Alimentos, para os governos da América Central e Panamá, sob o patrocínio da OPAS. De 1966 a 1974, foi assessor em seminários desta mesma Organização, para o controle de Alimentos e Drogas, realizados na Costa Rica, Panamá, Honduras, Equador, Guatemala e Venezuela. De 1968 a 1972, foi professor e organizador de cursos sobre Controle de Alimentos, realizados na Universidade do Panamá, ainda sob o patrocínio da OPAS.

Representou o Ministério da Saúde do Brasil no "1.º Grupo Internacional de Trabalho sobre Controle de Medicamentos", em Washington, 1979.

Junto à Associação Brasileira de Normas Técnicas foi representante do Instituto Adolfo Lutz na Comissão de Química Orgânica e na Comissão de Embalagens Plásticas, a partir de 1969. Representou, ainda, o IAL no Grupo de Trabalho G-2, da Comissão de Normas e Padrões para Alimentos e num grupo de trabalho para elaboração de Normas de Controle de Aflatoxina em Alimentos.

Participou de congressos da Associação Brasileira de Química e da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, onde regularmente apresentou sua contribuição científica.

No campo da editoração científica, participou da Comissão de Redação da revista "Selecta Química", de 1955 a 1959; da Sub-Comissão de Vitaminas, para elaboração da Farmacopéia Brasileira, 2.^a edição, 1959, e na obra "Normas de Qualidade para Alimentos", em 6 volumes, elaborada em conjunto por Oficina Sanitária Panamericana e Instituto Adolfo Lutz. Fez parte de grupos de trabalho que procederam à revisão de normas técnicas de padronização de alimentos e reexame de normas de emprego de todos os defensivos agropecuários, tendo em vista melhores condições de saúde para a população.

Com o intuito de divulgar conhecimentos adquiridos ao longo de sua carreira científica, proferiu inúmeras conferências sobre Alimentos e Legislação em congressos e simpósios, tanto no Brasil como no exterior. Deixou mais de 30 trabalhos nas áreas de Bromatologia e Química, e na de Controle de Medicamentos.

Pertenceu à Associação dos Ex-alunos de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da USP, tendo sido seu presidente de 1948 a 1952; ao Sindicato dos Químicos, Químicos Industriais, Químicos Industriais Agrícolas e Engenheiros, do Estado de São Paulo, tendo presidido este Sindicato desde 1960 até 1972. Foi membro efetivo da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, desde 1950, e da Associação Brasileira de Química, desde 1941.

Ainda em vida, viu coroados muitos de seus esforços ao receber o troféu "Retorta de Ouro", conferido em 1977, ao Químico do Ano, pelo Sindicato dos Químicos e Engenheiros Químicos do Rio de Janeiro.

A sua carreira profissional, sempre marcada pela competência, bom senso e amor à Ciência e à Instituição à qual dedicou maior parte de sua vida, é um exemplo a seguir.

GERMÍNIO NAZÁRIO

-aos COLABORADORES

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

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

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

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

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

Página de rosto

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

Texto

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

Material de referência

Resumos (em português e em inglês)
Descritores
Referências bibliográficas

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

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

UNIDADES DE MEDIDA E SEUS SÍMBOLOS — Deverão ser usadas somente as unidades legais de medir do Sistema Nacional de Metrologia (BRASIL. Leis, decretos etc. — Resolução n.º 01/82 do Conselho Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. *Diário Oficial*, Brasília, 10 maio 1982. Seção I, pt. I, p. 8384-93. Aprova a regulamentação metrológica das unidades de medida).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Na lista de referências — Terão numeração consecutiva e serão ordenadas alfabeticamente pelo último sobrenome do autor (regra geral). Todos os autores do artigo deverão ser citados.

Para artigos de periódicos

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

Ex.:

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

Para livros

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

Ex.:

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

Rev. Inst. Adolfo Lutz,

46(1/2), 1986.

DA PUBLICAÇÃO

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

DA DISTRIBUIÇÃO

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

PRIMEIRO ENCONTRO DE *BIOMPHALARIA STRAMINEA*
(DUNKER, 1848) NO MUNICÍPIO DE TAUBATÉ,
VALE DO PARAÍBA, ESTADO DE SÃO PAULO *

Luiz dos SANTOS **
Ioli Bueno COSTA **
Carlos H. de Paula LICO **

RIAL6/603

SANTOS, L.; COSTA, I.B. & LICO, C.H.P. — Primeiro encontro de *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) no município de Taubaté, Vale do Paraíba, Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):1-4, 1986.

RESUMO: Os planorbídeos da espécie *Biomphalaria straminea* têm vasta distribuição no Brasil. No Estado de São Paulo, a introdução dessa espécie ocorreu em 1969, através de peixes importados do Nordeste do Brasil, segundo R.R. Corrêa et alii (1970). Em 1972, J.T. Piza et alii assinalaram a existência da *B. straminea* em apenas três municípios do Estado de São Paulo. Em 1975, o primeiro foco dessa espécie foi encontrado no município de Cruzeiro, SP, por L. Santos. No mesmo local, em 1980, este autor detectou pela primeira vez *B. straminea* naturalmente infectada. A carta malacológica elaborada por J.F. Vaz et alii, em 1981, já acusa a presença dessa espécie em vinte e cinco municípios, mostrando portanto a sua disseminação. Em 1985, L. Santos et alii identificaram pelo exame da genitália, num lote de 87 caramujos provenientes de um ranário do município de Taubaté, a espécie *B. straminea*, até então não assinalada neste município. Os girinos desse ranário provinham da cidade de Igaratá, SP, onde os planorbídeos eram encontrados comumente junto a plantas aquáticas. Taubaté situa-se quase no centro geográfico de uma região endêmica de esquistossomose, o Vale do Paraíba. Por este motivo, são recomendadas medidas adequadas de vigilância epidemiológica para que se não alastre a *B. straminea*, ainda em fase de adaptação ao ecossistema da região.

DESCRITORES: *Biomphalaria straminea*, Taubaté, São Paulo, Brasil.

INTRODUÇÃO

Os planorbídeos da espécie *Biomphalaria straminea* têm vasta distribuição no Brasil, atingindo quase todos os Estados do País, desde o Amazonas¹ até o Paraná³. No Estado de São Paulo, a introdução da *B. straminea* ocorreu em 1969, segundo CORRÊA et alii³, sendo que os primeiros exemplares dessa espécie de caramujo foram coletados nas Estações Experimentais de Biologia e Piscicultura de Barra Bonita e de Americana, ambas em São Paulo.

PIZA et alii¹¹, em 1972, efetuaram pesquisas malacológicas em 571 municípios do Estado de São Paulo, localizando seis espécies do gênero *Biomphalaria* Preston, 1910. Nessa ocasião, em apenas três municípios deste Estado, Americana, Barra Bonita e Pereira Barreto (Ilha Solteira) foi assinalada a presença de *B. straminea*.

De acordo com a Carta Malacológica do Estado de São Paulo⁸, elaborada por J.F. Vaz, em 1981, e pelo Levantamento Planorbídico do Estado de São Paulo, 7.^a Região Administrativa, efetuado por VAZ et alii¹⁴,

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

** Do Laboratório I, Instituto Adolfo Lutz, Taubaté.

em 1985, a *Biomphalaria straminea* já foi assinalada em vinte e cinco municípios, incluindo o de Cruzeiro, Vale do Paraíba, onde em 1975 descobrimos os primeiros caramujos dessa espécie (comunicado oficial à Diretoria do Instituto Adolfo Lutz) e onde, em 1980, assinalamos o primeiro encontro desses planorbídeos naturalmente infectados por *S. mansoni*¹³.

MATERIAL E MÉTODOS

Desde 1975, quando pela primeira vez descobrimos um criadouro de *B. straminea*, no Vale do Paraíba, no município de Cruzeiro, S.P., a expectativa era de que com o correr dos anos certamente seriam encontrados novos focos dessa espécie de planorbídeo nos municípios situados a jusante da cidade de Cruzeiro, ou seja, seguindo o curso do Rio Paraíba em direção ao Estado do Rio de Janeiro.

Em virtude de, por diversas vezes, termos surpreendido exemplares de *B. straminea* em plantas aquáticas adquiridas em casas de aquário da cidade de Taubaté e, ainda, alertados pelo interessante trabalho de CORRÊA et alii² a respeito desse mesmo assunto, permanecemos atentos, observando cuidadosamente todas as coletas de caramujos que recebíamos para exame, pelo fato de sempre haver a possibilidade desses moluscos escaparem ao controle dos aquaríofílos e alcançarem o Rio Paraíba do Sul através da rede de esgoto ou de um afluente.

Assim, confirmando as expectativas, em 20 de junho de 1985, recebemos para exame no Instituto Adolfo Lutz, Laboratório I de Taubaté, um lote de 87 caramujos coletado pelos empregados do "Sítio Regis Guisard", no bairro de Piracanguá, município de Taubaté, S.P. Todos os 87 caramujos foram negativos ao exame para pesquisa de cercárias de *Schistosoma mansoni*. Mas, devido ao tamanho e configuração das conchas (todas com diâmetro máximo de 11 mm), resolvemos dissecar vários exemplares para uma correta identificação da espécie. Para surpresa nossa, verificamos que todos os planorbídeos dissecados eram da espécie *Biomphalaria straminea*, ainda não assinalada no município de Taubaté.

A identificação foi feita através da observação e medida das conchas, procedendo-se em seguida à dissecação da genitália para uma avaliação mais precisa da espécie de caramujo. Para isso, baseamo-nos em trabalhos de PARAENSE^{7, 8}, PARAENSE & DESLANDES^{9, 10} e também em "A guide for identification of the snail intermediate hosts of schistosomiasis in America", da Organização Pan-americana de Saúde⁵.

O "Sítio Regis Guisard" fica ao lado do córrego Piracanguá, sendo utilizado atualmente para a criação de rãs. Quando da

instalação do ranário, seus proprietários adquiriram os girinos e as plantas aquáticas em uma granja no município de Igaratá, S.P., próximo à capital do Estado.

Em virtude da importância epidemiológica do encontro da *B. straminea* na região de Taubaté, ou seja, bem no centro geográfico de uma zona endêmica de esquistossomose, resolvemos efetuar novas pesquisas malacológicas. Assim, em outra visita ao criadouro, coletamos 1.627 planorbídeos, todos da espécie *B. straminea*. Foi possível, desse modo, observar que a quantidade de caramujos dessa espécie, nas valetas que alimentam os ranários, era incrivelmente grande. Milhares de planorbídeos *B. straminea* podiam com toda a facilidade ser coletados ao longo das valetas, cuja vegetação aquática era abundante (*Eichornia* sp., *Salvinia* sp. etc.) e na qual podíamos notar, aderidas à face inferior das folhas desta vegetação, dezenas de milhares de placas ovíferas aí depositadas pelos caramujos.

Em vista desses fatos e como esse ranário já tem mais de dois anos no local, é muito provável que os caramujos já tenham conseguido atingir até a várzea do Rio Paraíba, pois o córrego Piracanguá é um de seus afluentes.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

É preciso assinalar que neste criadouro, de Taubaté, foram encontrados somente caramujos da espécie *Biomphalaria straminea*.

A importância deste achado reside no fato de que essa espécie de planorbídeo é extremamente prolífica e, mesmo sendo menos suscetível que a *B. glabrata* no Nordeste do Brasil, ela é mais importante como vetaora da esquistossomose nessa mesma região, devido à sua ampla distribuição e também à associação com altos índices de infecção humana¹¹.

Devemos acrescentar ainda que, conforme já demonstramos em um trabalho anterior, apresentado no 8.º Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, São Paulo, 1983, quando a *B. straminea* coabita o mesmo nicho ecológico com a *B. tenagophila*, dentro de pouco tempo aquela sobrepuja esta última espécie e acaba por eliminá-la do criadouro¹². Assim sendo, desde que a *B. straminea* se adapte a este habitat, o que nos parece já ter ocorrido, é bem provável que essa espécie de planorbídeo venha a se instalar no Vale do Paraíba.

Já em 1970, R.R. CORRÊA et alii³ e, em 1980, L.L. CORRÊA et alii² assinalavam a gravidade do problema e mostravam a possibilidade da disseminação da *B. straminea* através da importação de peixes ou plantas aquáticas de outros Estados, para as estações de piscicultura ou para represas ou lagos de particulares.

Atualmente, com o incremento da criação de rãs no País, a comercialização dos girinos, de uma região para outra, poderá contribuir seriamente para a disseminação dessa nova espécie de planorbídeo no Vale do Paraíba e no Estado de São Paulo, o que, evidentemente, viria dificultar ainda mais o controle da esquistossomose, nesta zona endêmica.

Por outro lado, sempre haverá alguns céti-
cos que não darão importância ao fato, alegando problemas de adaptação e de suscetibilidade à cepa de *Schistosoma mansoni*. Resta demonstrar a suscetibilidade da *B. straminea* de Taubaté frente a essa cepa, o que será objeto de trabalhos posteriores.

Na verdade, deverá levar algum tempo, cerca de quatro ou cinco anos, até que essa espécie de planorbídeo se tenha adaptado ao seu novo biótipo e também à cepa S.J. de *Schistosoma mansoni* do Vale do Paraíba. Mas é evidente também que, quando isso se der, talvez já seja tarde demais para evitar a sua disseminação.

As autoridades sanitárias devem estar atentas para este achado e tomar medidas urgentes para o controle da esquistossomose no Vale do Paraíba. A urgência se prende ao fato de que a *B. straminea* ainda não se alastrou totalmente nesta região, estando em fase de adaptação ao seu ecossistema.

RIALA6/603

SANTOS, L.; COSTA, I.B. & LICO, C.H.P. — First identification of *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) in the county of Taubaté, Vale do Paraíba, State of São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46 (1/2):1-4, 1986.

ABSTRACT: The planorbid *Biomphalaria straminea* has a widespread distribution in Brazil. In the state of São Paulo, the introduction of this species occurred in 1969, through fish transported from Northeastern Brazil. In 1972, Piza et alii showed the presence of this species in only three towns of São Paulo state. Since 1981, Vaz, in his Malacological Chart, demonstrated the existence of *B. straminea* in 25 towns of the state of São Paulo. In 1975, the authors discovered this species in the town of Cruzeiro, also in the state of São Paulo. In 1980, in the same locale, the authors pointed out for the first time naturally infected *B. straminea*. In June 1985, we found *B. straminea* in a lot of 87 snails collected at a frog breeding place in Taubaté city, SP. The larval stage of frogs had come from the city of Igaratá where snails are frequently found in aquatic plants. Taubaté is located almost at the geographic center of the Paraíba River Valley where schistosomiasis is known to be endemic. It is thus recommended that epidemiological surveillance be exerted to avoid the spreading of schistosomiasis by *B. straminea*.

DESCRIPTORS: *Biomphalaria straminea*, Taubaté, São Paulo, Brazil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARBOSA, F.S. — A note on *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) from Manaus, State of Amazonas, Brazil. *Rev. Soc. bras. Med. trop.*, 2:77-8, 1968.
2. CORRÊA, L.L.; CORRÊA, M.O.A.; VAZ, J.F.; SILVA, M.I.P.G.; SILVA, R.M. & YAMANAKA, M.T. — Importância das plantas ornamentais dos aquários como veículos de propagação de vetores de *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40:89-96, 1980.
3. CORRÊA, R.R.; MURGEL, J.M.T.; PIZA, J.T.; RAMOS, A.S.; DIAS, L.C.S.; MORAIS, L.V.C. & ROSARIO, F.F. — Dispersão de *Biomphalaria straminea*, hospedeira intermediária do *Schistosoma mansoni*, através da distribuição de peixes. *Rev. Saúde Pública*, 4:117-27, 1970.
4. MAGALHÃES, L.A.; DIAS, L.C.S.; PIZA, J.T.; TAKAKU, L. & PEREIRA, A.A. — Aspectos epidemiológicos da esquistossomose mansônica na região da represa de Americana, Estado de São Paulo. São Paulo, Secretaria de Estado da Saúde, [1972]. 15 p.
5. PAN-AMERICAN HEALTH ORGANIZATION — A guide for identification of the snail intermediate hosts of schistosomiasis in the Americas. Washington, 1968. 120 p. (Scient. publ. n. 168).
6. PARAENSE, W.L. — The distribution of molluscan vectors of schistosomiasis in the Americas. *Brasília méd.*, 2:11-14, 1975.
7. PARAENSE, W.L. — Estado atual da sistemática dos planorbídeos brasileiros. *Arg. Mus. nac. Rio de J.*, 55:105-28, 1975.

SANTOS, L.; COSTA, I.B. & LICO, C.H.P. — Primeiro encontro de *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) no Município de Taubaté, Vale do Paraíba, Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):1-4, 1986.

8. PARAENSE, W.L. — The nomenclature of Brazilian planorbids. III. "Australorbis stramineus" (Dunker, 1848). *Rev. bras. Biol.*, 23:1-7, 1963.
9. PARAENSE, W.L. & DESLANDES, N. — Studies on "Australorbis centimetricus". I: Morphology, in comparison with "A. glabratus". *Rev. bras. Biol.*, 15:293-307, 1955.
10. PARAENSE, W.L. & DESLANDES, N. — Studies on "Australorbis centimetricus". II: Biospecific characterization. III: Generic status. *Rev. bras. Biol.*, 15:341-8, 1955.
11. PIZA, J.T.; RAMOS, A.S.; MORAES, L.V.C.; CORRÊA, R.R.; TAKAKU, L. & PINTO, A.C.M. — Carta planorbídica do Estado de São Paulo. São Paulo, Secretaria do Estado da Saúde [1972]. 17 p.
12. SANTOS, L.; COSTA, I.B. & FIGUEIREDO, C.C.S.B. — Competição entre populações de caramujos: *Biomphalaria tenagophila* do Vale do Paraíba x *Biomphalaria straminea* oriunda do Nordeste, mas fixada no Vale do Paraíba. In: CONGRESSO DA FEDERACIÓN LATINO-AMERICANA DE PARASITOLOGIA, 6.º, CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PARASITOLOGIA, 8.º, JORNADA PAULISTA DE PARASITOLOGIA. São Paulo, FLAP, 1983. p. 80.
13. SANTOS, L.; COSTA, I.B.; FIGUEIREDO, C.C.S.B. & ALTOMANI, M.A.G. — Primeiro encontro de *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) no município de Cruzeiro, Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, naturalmente infectada por cercárias de *Schistosoma mansoni*. Nota prévia. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40:165-6, 1980.
14. VAZ, J.F.; TELES, H.M.S. & TAKAKU, L. — Levantamento planorbídico do Estado de São Paulo: 7.ª Região Administrativa. *Cienc. Cult.*, São Paulo, 37:2057-62, 1985.

Recebido para publicação em 4 de julho de 1985.

ESTUDO DAS VARIAÇÕES DO COEFICIENTE FENÓLICO E DILUIÇÃO DE USO DE DIVERSOS TIPOS DE DESINFETANTES APLICADOS NORMALMENTE NA DESINFECÇÃO HOSPITALAR *

Walter ALVES **

Ileana Edelweis Margaritelli da FONSECA **

Otilia Ferreira NOVO **

RIALA6/604

ALVES, W.; FONSECA, I.E.M. & NOVO, O.F. — Estudo das variações do coeficiente fenólico e diluição de uso de diversos tipos de desinfetantes aplicados normalmente na desinfecção hospitalar. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):5-9, 1986.

RESUMO: Foi feito um estudo dos princípios ativos de desinfetantes normalmente utilizados em hospitais (hipoclorito de cálcio, compostos de amônio quaternário, fenóis, formaldeído, Irgasan DP-300). São apresentadas tabelas demonstrando a relação entre o coeficiente fenólico e a diluição de uso de cada desinfetante. É ressaltado que há diluições de desinfetantes que são próprias para áreas específicas, tais como: centros cirúrgicos, berçários, unidades de terapia intensiva etc.

DESCRIPTORIOS: desinfetantes hospitalares, coeficiente fenólico e diluição de uso; hipoclorito de cálcio; compostos de amônio quaternário; compostos fenólicos; formaldeído; Irgasan DP-300.

INTRODUÇÃO

A infecção hospitalar constitui um grave risco para o paciente debilitado, que pode adquiri-la por ocasião de uma cirurgia, no pós-operatório ou mesmo na convalescença.

Em conseqüência deste fato, aqui nos cabe realçar a importância da desinfecção hospitalar nos aspectos de prevenção e controle das infecções. Na maioria dos casos, os hospitais fazem uso de vários métodos de desinfecção mas, por falta de conhecimento, estes métodos são ineficazes ou inseguros; com isso, não atingem seu objetivo em vista da utilização incorreta.

As bactérias causadoras destas infecções podem atingir os pacientes através de pessoas que trabalham dentro do hospital, como médicos, enfermeiros, auxiliares, técnicos, faxineiros, cozinheiros, funcionários da lavanderia etc.⁴. Neste contexto, ressaltamos a importância de uma equipe especializada no

uso correto de desinfetantes, com conhecimentos de diluição de uso através de testes de laboratório que reproduzam as condições ambientais de maneira segura.

Por definição, desinfetantes são substâncias solúveis em água, destinadas a eliminar bactérias patogênicas ou potencialmente patogênicas de superfícies contaminadas, tais como pisos, paredes, mesas de curativos, mesas operatórias etc.

Os autores fizeram um estudo de alguns princípios ativos de desinfetantes utilizados normalmente em hospitais, com o objetivo de estabelecer coeficientes fenólicos (CF) e as diluições de uso (DU) dos mesmos, para que seja minorado o problema das infecções hospitalares^{2, 3, 5, 6}.

MATERIAL E MÉTODO

Foram selecionados os principais desinfetantes ou princípios ativos de desinfetantes

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

comumente utilizados na rede hospitalar, e testadas, no mínimo, 20 amostras de cada um deles, num total de 260 amostras. O fenol, os desinfetantes e as diluições de uso foram testados de acordo com as técnicas da A.O.A.C.¹, adaptadas às condições de laboratório do Instituto Adolfo Lutz^{4, 7, 8, 9}. Após a determinação do CF dos vários desinfetantes, pôde-se confirmar a validade dos resultados e verificar as diluições que seriam eficazes na desinfecção prática, ou seja, a diluição de uso.

Material

Pipetas volumétricas
Pipetas graduadas de Mohr
Tubos graduados de 20 x 20 mm, tampoados, estéreis
Alça de platina de 4 mm de diâmetro e agulhas para transferência
Cilindros de aço inoxidável, polidos, previamente lavados e tratados com solução de hidróxido de sódio 1 N, esterilizados
Placas de Petri, esterilizadas
Vidros com água, esterilizados
Papel de filtro estéril

Reagentes

Ágar nutriente
Caldo nutriente (meio de Rideal Walker)
Fenol

Culturas de microrganismos

Staphylococcus aureus (H209)
Salmonella cholerae suis
Pseudomonas aeruginosa

Método

Para a determinação do coeficiente fenólico foram utilizadas as três culturas de microrganismos em meio de Rideal Walker, a 37 °C, durante 24 horas. Em cada diluição do fenol foi colocado 0,5 ml das culturas acima e repicado para o meio de Rideal Walker, em 5, 10 e 15 minutos. Foi verificado o crescimento em 48 horas, a 37 °C. A leitura foi realizada após 48 horas. Determinou-se a diluição do fenol que apresentou crescimento em 5 minutos, porém não em 10 e 15 minutos. O mesmo processo foi realizado para os desinfetantes em estudo.

O coeficiente fenólico foi determinado utilizando-se o seguinte cálculo: diluição para o fenol dividida pela diluição para o desinfetante, para uma determinada bactéria.

Para a determinação da diluição de uso, foram contaminados 10 cilindros de aço inoxidável ou xícaras de antibióticos, previamente esterilizados, limpos e neutralizados com culturas de 48 horas, a 35 - 37 °C, de

Staphylococcus aureus (H209), *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella cholerae suis*. Os cilindros foram colocados nas respectivas culturas e retirados após 15 minutos, sendo, em seguida, colocados para secar em placas de Petri forradas com papel de filtro estéril, durante 30 minutos, a 37 °C. A seguir, colocou-se cada cilindro contaminado em cada um dos 10 tubos contendo as diferentes diluições de uso dos desinfetantes, de um em um minuto, até completar dez minutos. Este procedimento foi repetido por seis vezes para cada microrganismo e cada desinfetante. A seguir, foi determinada a diluição que destruiu o microrganismo do teste, quando não houve crescimento das culturas após incubação durante 48 horas, a 35 - 37 °C.

RESULTADOS

A tabela 1 apresenta as diluições dos desinfetantes analisados para as diferentes espécies de microrganismos testados, com a finalidade de se determinar o coeficiente fenólico e as diluições de seu uso para estes microrganismos.

Na tabela 2 estão representados os coeficientes fenólicos e a relação entre a diluição de uso e este coeficiente.

DISCUSSÃO

Existe uma grande variação entre os coeficientes fenólicos e as diluições de uso nos diferentes desinfetantes utilizados em áreas críticas, semicríticas e não-críticas de hospitais. Foi demonstrado, através das análises por nós efetuadas, que, com exceção do formol, nas diluições de uso do desinfetante foi necessária uma maior quantidade do que a esperada.

Notamos que, em relação ao coeficiente fenólico e diluição de uso, os desinfetantes fenólicos variam menos que os desinfetantes clorados e os sais de amônio quaternário, sendo que estes últimos, quando usados de maneira errônea, isto é, em concentração não correspondente às DU, podem ocasionar problemas. Quando se elimina a flora Gram-positiva (*Staphylococcus*, *Streptococcus* etc.), a Gram-negativa (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* etc.) tende a ocupar o espaço, isto é, aumenta em número. O ideal será o uso de DU correta, que atue sobre as duas gamas de bactérias.

RECOMENDAÇÕES

Em função deste estudo, verificamos que não basta os hospitais usarem bons desinfetantes; o importante é que saibam com exatidão a DU a ser utilizada, para que esta desinfecção não venha a agravar as condições de contaminação hospitalar mas, ao contrário, seja segura e eficaz.

TABELA 1

Diluições dos desinfetantes analisados em função das diversas espécies de microrganismos testados

Princípio ativo do Desinfetantes	N.º de amostras	Diluição encontrada para o coeficiente fenólico			Diluição de uso		
		<i>Staphylococcus aureus</i> (H209)	<i>Salmonella cholerae suis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (H209)	<i>Salmonella cholerae suis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Hipoclorito de cálcio a 10%	20	1:10.000	1:1.000	1:2.000	1:50	1:100	1:50
Cloreto de alquil dimetilamônio Cloreto de alquil dimetil benzilamônio	30	1:10.000	1:4.000	1:15.000	1:4.000	1:500	1:80
Cloreto de alquil dimetil benzilamônio Cloreto de alquil dimetil etil benzilamônio Formaldeído a 38%	30	1:8.000	1:3.000	1:2.000	1:5.000	1:300	1:30
Orto-fenil fenol a 62,5% Orto-fenil para-clorofenol a 72%	30	1:3.000	1:5.000	1:500	1:500	1:800	1:50
Cloreto de benzalcônio a 95%	30	1:30.000	1:30.000	1:10.000	1:30.000	1:8.000	1:300
Detergente e desinfetante com 20% de formol	30	1:10	1:10	1:10	1:10	1:10	1:10
Formol a 38%	30	1:60	1:100	1:70	1:60	1:100	1:70
Irgasan DP-300 com 0,75% de (2-4-4'-triclora-2-hidroxifenol éter)	30	1:600	1:20.000	—
Cloreto de benzalcônio a 0,15% em formaldeído a 40%	30	1:10	1:30	1:30	1:10	1:10	sem diluição

(—) = Houve crescimento, mesmo com o desinfetante puro.

(...) = Insuficiência de dados.

ALVES, W.; FONSECA, I.E.M. & NOVO, O.F. — Estudo das variações do coeficiente fenólico e diluição de uso de diversos tipos de desinfetante aplicados normalmente na desinfecção hospitalar. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):5-9, 1986.

TABELA 2

Coefficiente fenólico e relação entre diluição de uso e coeficiente fenólico para as diferentes espécies de microrganismos testados

Desinfetantes	Coeficiente fenólico			Relação entre diluição de uso e coeficiente fenólico		
	<i>Staphylococcus aureus</i> (H209)	<i>Salmonella cholerae suis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (H209)	<i>Salmonella cholerae suis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Hipoclorito de cálcio a 10%	12,50	10,00	28,57	0,00	0,10	0,02
Cloreto de alquil dimetilamônio Cloreto de alquil dimetil benzilamônio	125,00	40,00	212,00	0,40	0,12	0,00
Cloreto de alquil dimetil benzilamônio Cloreto de alquil dimetil etil benzilamônio Formaldeído a 38%	100,00	30,00	28,57	0,62	0,10	0,01
Orto-fenil fenol a 62,5% Orto-fenil para-clorofenol a 72%	37,50	50,00	7,14	0,16	0,16	0,10
Cloreto de benzalcônio a 95%	375,00	300,00	142,80	1,00	0,26	0,03
Detergente e desinfetante com 20% de formol	0,12	0,10	0,14
Formol a 38%	0,75	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Irgasan DP-300 com 0,75% de (2-4-4'-triclora-2-hidroxifenol éter)	7,50	200,00	—
Cloreto de benzalcônio a 0,15% em formaldeído a 40%	0,12	0,30	0,42	1,00	0,33	sem diluição

(—) = Houve crescimento, mesmo com o desinfetante puro.

(...) = Insuficiência de dados.

ALVES, W. J.; FONSECA, I.E.M. & NOVO, O.F. — Estudo das variações do coeficiente fenólico e diluição de uso de diversos tipos de desinfetante aplicados normalmente na desinfecção hospitalar. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46 (1/2): 5-9, 1986.

ALVES, W.; FONSECA, I.E.M. & NOVO, O.F. — Estudo das variações do coeficiente fenólico e diluição de uso de diversos tipos de desinfetante aplicados normalmente na desinfecção hospitalar. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):5-9, 1986.

RIALA6/604

ALVES, W.; FONSECA, I.E.M. & NOVO, O.F. — A study of variations of the phenol coefficient and use dilution of various disinfectants commonly employed in hospitals. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):5-9, 1986.

ABSTRACT: A study is made of the active components of disinfectants regularly used in hospitals (calcium hypochlorite, quaternary ammonium compounds, phenols, formaldehyde, Irgasan DP-300). Tables are presented which show the relation between the phenol coefficient and the use dilution of each disinfectant. It is stressed that these are dilutions of a disinfectant which are proper to specific areas such as surgical centers, newborn wards, intensive therapy units etc.

DESCRIPTORS: disinfectants (hospital), phenol coefficient and use dilution; calcium hypochlorite; quaternary ammonium compounds; phenol compounds; formaldehyde; Irgasan DP-300.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS — *Official methods of the Association of Official Analytical Chemists*. 13rd ed. Washington, A.O.A.C., 1980. p. 56-8.
2. HARVEY, S.C. — Antiseptics and disinfectants; fungicides; ectoparasiticides. In: GOODMAN, L.S. & GILMAN, A., ed. — *The pharmacological basis of therapeutics*. 5th ed. New York, MacMillan, c1975. p. 987-1015.
3. NOVELLI, A. — *Química organica (ucilica) ... medicamentos organicos*. Buenos Aires, El Ateneo, 1950. p. 355; 377; 386.
4. PESSOA, G.V.A. — Contaminação por enterobactérias em berçários do município de São Paulo. São Paulo, 1978. 85 p. [Tese livre-doc. — Inst. de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo]
5. PETROCCHI, A.N. — Quaternary ammonium compounds. In: BLOCK, S.S., ed. — *Disinfection, sterilization and preservation*. 2nd ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1977. p. 325-47.
6. PRINDLE, R.F. & WRIGHT, E.S. — Phenolic compounds. In: BLOCK, S.S., ed. — *Disinfection, sterilization and preservation*. 2nd ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1977. p. 219-51.
7. REDISH, G.F., ed. — *Antiseptics, disinfectants, fungicides, and chemical and physical sterilization*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1954. p. 30-7; 68-9; 340-4.
8. SHAFFER, C.H., Jr. — Methods of testing sanitizers and bacteriostatic substances. In: BLOCK, S.S., ed. — *Disinfection, sterilization and preservation*. 2nd ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1977. p. 79-89.
9. SYKES, G. — *Disinfection and sterilization*. 2nd ed. London, E. & F.N. Spon, 1965. p. 38-105.

Recebido para publicação em 5 de agosto de 1985.

SUBSÍDIOS PARA O ESTABELECIMENTO DE METODOLOGIA PARA O CONTROLE DE CORANTES NATURAIS PARA ALIMENTOS *

Helena Yuco YABIKU **
Mickiko Yamasaki TAKAHASHI **
Mirian S.F. CARUSO **
Cristian A.S. MENEZES **

RIALA6/605

YABIKU, H.Y.; TAKAHASHI, M.Y.; CARUSO, M.S.F. & MENEZES, C.A.S. Subsídios para o estabelecimento de metodologia para o controle de corantes naturais para alimentos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):11-18, 1986.

RESUMO: Dezesete amostras de corante urucum, 6 de cúrcuma, 9 de cochonilha, 10 de vermelho de beterraba, 4 de antocianinas de casca de uva e 4 de clorofilina cúprica, num total de 50 amostras de corantes naturais, foram analisadas para verificar se estes corantes atendiam às Normas de Identidade e Qualidade estabelecidas pela "Food Agricultural Organization/World Health Organization". Para todas as amostras foram traçados espectros de absorção na região do ultravioleta e visível para caracterização do corante natural. Também foram pesquisadas impurezas, tais como arsênico e chumbo, além de adulterantes, como corantes artificiais. Do total de 50 amostras analisadas, 20 apresentaram especificações fora dos padrões de Identidade e Qualidade da "FAO/WHO", bem como dos padrões propostos nas monografias de um grupo brasileiro de estudo de corantes naturais para alimentos.

DESCRITORES: corantes naturais para alimentos, controle de qualidade; urucum, cúrcuma, cochonilha, vermelho de beterraba, antocianinas de casca de uva, clorofilina cúprica.

INTRODUÇÃO

Os corantes naturais pertencem a uma das classes de aditivos permitidos pela legislação para alimentos. Estes aditivos estão sendo usados há bastante tempo, ainda que em pequena escala.

Atualmente há grande interesse em substituir os corantes artificiais pelos naturais. Destes corantes, os mais utilizados em alimentos, que se encontram no mercado, são por ordem: urucum, cúrcuma, cochonilha, vermelho de beterraba, clorofilina cúprica e antocianinas de casca de uva¹.

O extrato de urucum (*Bixa orellana*) contém vários corantes, incluindo a bixina (extrato lipossolúvel) e a norbixina (extrato

hidrossolúvel). A cúrcuma (*Curcuma longa* L.) tem como principal corante a curcumina. Cochonilha (carmim) é a laca de alumínio ou de cálcio-alumínio extraída dos corpos dessecados de fêmeas do inseto *Dactylopius coccus* Costa; o princípio ativo deste corante é o ácido carmínico. Vermelho de beterraba é o corante extraído das raízes da beterraba vermelha (*Beta vulgaris* L.). A clorofilina cúprica é obtida da clorofila por remoção dos grupos ésteres, metila e fitila, por saponificação com álcalis e substituição parcial do magnésio por cobre. As antocianinas, glicosídeos das antocianidinas, são encontradas em vários frutos; atualmente, a única antocianina encontrada no comércio é a enocianina, que é corante extraído da casca de uva².

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

Na legislação brasileira especializada, a expressão "sem limite", para o uso de corantes naturais, significa "dentro das quantidades estritamente necessárias para o efeito desejado" (boa técnica de fabricação).

A determinação de corantes naturais nos alimentos está limitada somente à identificação e não à quantificação. Os processos de obtenção, extração e purificação dos corantes naturais levam a um determinado e específico produto. Neste último é que devem ser feitos os controles, de acordo com Normas de Identidade e Qualidade. Assim, pode-se verificar se o corante analisado é o corante natural permitido pela legislação, ou seja, aquele que tem uma avaliação toxicológica ⁸.

O presente trabalho tem por objetivo caracterizar o corante natural, determinando o teor do princípio corante, e detectar impurezas como arsênico, chumbo, cobre e fraudes como cromatos e corantes artificiais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 17 amostras do corante urucum, 6 de cúrcuma, 9 de cochonilha, 10 de vermelho de beterraba, 4 de antocianinas de casca de uva e 4 de clorofilina cúprica, totalizando 50 amostras, sendo que a maioria foi recebida para análise prévia, isto é, para fins de registro, no Instituto Adolfo Lutz.

Todos os reagentes e drogas empregados eram de grau de pureza "pró-análise", de acordo com a metodologia específica para cada corante.

Os métodos utilizados constam de "Monografias de corantes naturais para fins alimentícios: padrões de identidade e qualidade" ⁶. Para a pesquisa de corantes artificiais foi usado o método de Arata ⁷. A determinação de arsênico foi baseada no método do dietilditiocarbamato de prata ¹ e o chumbo foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica com chama ⁵.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram traçados espectros de absorção, nas regiões do ultravioleta e visível, de todas as amostras analisadas para caracterização do corante natural.

Para avaliar a qualidade do corante, não só o teor do princípio corante é importante, mas também os teores das impurezas que ele apresenta, como contaminantes. Neste sentido, determinamos as quantidades de arsênico e chumbo em todos os corantes estudados, já que estes são genericamente considerados contaminantes tóxicos.

Uma das maneiras de adulterar o corante natural é pela utilização de corantes artificiais; assim, pesquisamos os mesmos em todas as amostras estudadas, não tendo sido verificada a sua presença em nenhuma delas.

Corante urucum

A figura 1 mostra o espectro de absorção deste corante nas regiões do ultravioleta e visível. Das 17 amostras analisadas, 6 apresentaram espectros incompatíveis com o do padrão. Esta incompatibilidade é importante para controlar estes tipos de corante, já que eles são empregados sem limite e devem, portanto, atender às especificações dos padrões.

A tabela 1 apresenta os teores de bixina e norbixina encontrados nos corantes. A bixina é o corante do extrato de urucum lipossolúvel, que pode estar presente sob as formas *cis* e *trans*. É o éster monometílico da norbixina. Esta, por sua vez, é o corante principal do extrato de urucum hidrossolúvel, produto da hidrólise da bixina, na forma de sal de sódio ou de potássio. Os extratos lipossolúveis e hidrossolúveis se diferenciam só pela maneira de extração dos pigmentos da semente de urucum. Altos teores de bixina e norbixina foram encontrados nos extratos concentrados.

Todas as amostras analisadas apresentavam níveis de arsênico com um valor máximo de 0,30 mg/kg e um mínimo de não-deteção. Em nenhuma das amostras o nível atingiu o valor de 3 mg/kg, que é o limite máximo permitido pela FAO/WHO ². Quanto ao chumbo, os valores encontrados variaram desde o limite de não-deteção até 1,68 mg/kg, todos muito aquém do limite máximo permitido pela FAO/WHO, que é de 20 mg/kg.

Corante cúrcuma

O espectro de absorção nas regiões do ultravioleta e visível do padrão de curcumina pode ser visto na figura 2. Todas as 6 amostras do corante cúrcuma analisadas mostraram espectros característicos, idênticos aos do padrão. Os teores de curcumina encontrados são mostrados na tabela 2.

O produto comercial (pó de cúrcuma) possui normalmente de 1 a 5% de curcumina e o seu rendimento pode ser aumentado, prolongando-se o período de colheita do rizoma de onde o pó é obtido.

Os valores de arsênico e chumbo encontrados nas amostras de cúrcuma mostraram teores bastante baixos, dentro dos limites permitidos pela FAO/WHO ³, que são de 3 e 10 mg/kg, respectivamente (tabela 2).

Ao pó de cúrcuma, que é corante de tonalidade amarela, pode vir adicionado, intencionalmente ou não, o corante artificial amarelo tartrazina. A sua presença é uma maneira de adulterar o produto. Enquanto que em nenhuma das amostras analisadas se constatou a presença de corante artificial, o mesmo não aconteceu em relação aos cromatos. A reação com difenil-carbazida revelou a presença de cromatos nas amostras de n.^{os} 16 e 44, que foi confirmada também por outro método, o da espectrofotometria de absorção atômica.

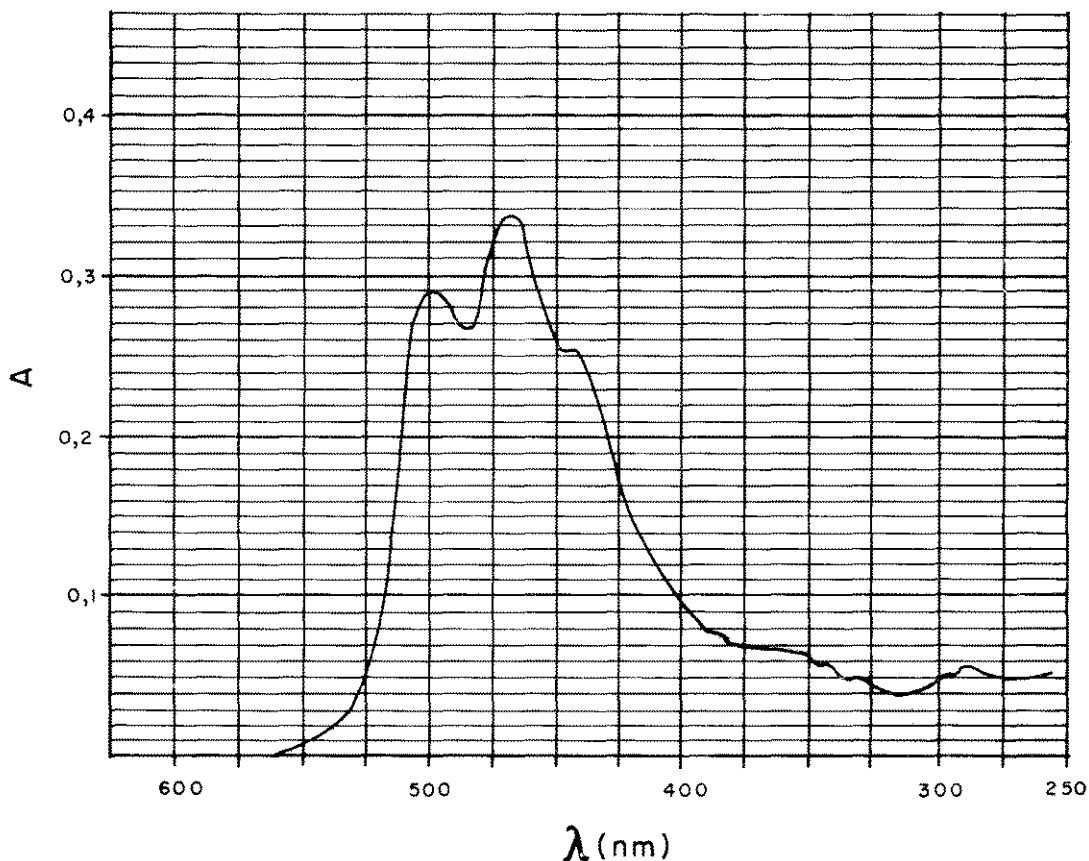


FIGURA 1 — Espectro de absorção nas regiões do ultravioleta e visível do padrão de urucum (bixina). Solução: 0,0002% em clorofórmio.

TABELA 1

Teores de bixina, norbixina, arsênico e chumbo nas amostras de corante de urucum

Amostra n.º	Bixina %	Norbixina %	Arsênico mg/kg (ppm)	Chumbo mg/kg (ppm)
1	—	0,42	0,08	ND
2	—	0,15	0,16	0,55
3	—	0,39	0,19	ND
4	0,02	—	0,02	0,21
5	—	38,53	0,11	0,33
6	—	1,58	0,13	0,74
7	—	10,88	ND	1,68
8	—	38,08	0,05	0,82
9	20,42	—	0,05	0,89
10	0,35	—	ND	ND *
11	—	11,18	ND	ND
12	6,80	—	ND	0,34
13	0,10	—	0,23	0,89
46	—	0,10	0,01	ND
47	22,79	—	0,26	0,82
48	16,89	—	0,17	0,52
49	—	6,95	0,30	0,45

* ND = não detectado por estar abaixo da sensibilidade do método.

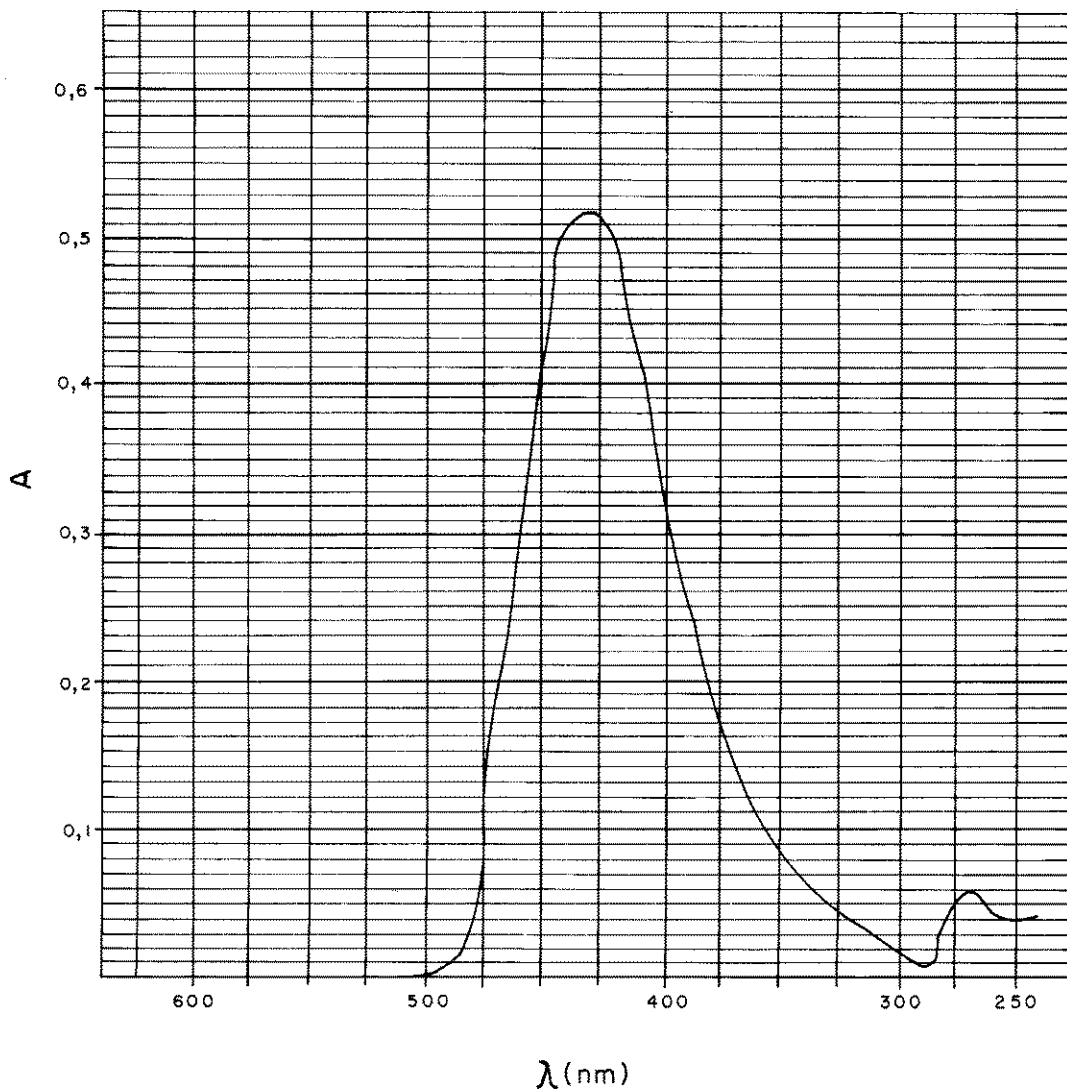


FIGURA 2 — Espectro de absorção nas regiões do ultravioleta e visível do padrão curcumina. Solução: 0,0002% em etanol.

TABELA 2

Teores de curcumina, arsênico e chumbo nas amostras de corante cúrcuma

Amostra n.º	Curcumina %	Arsênico mg/kg (ppm)	Chumbo mg/kg (ppm)
14	4,50	0,11	0,26
15	8,66	0,10	0,27
16	10,00	0,49	0,57
17	0,25	ND *	ND
44	7,72	0,20	0,67
45	10,05	0,26	0,54

* ND = não detectado.

Corante cochonilha (carmim)

O espectro de absorção, nas regiões do ultravioleta e visível, do ácido carmínico (princípio do corante de cochonilha) pode ser visto na figura 3. As 9 amostras do corante de cochonilha analisadas apresentaram identidade com o padrão.

Os teores de ácido carmínico das amostras estão na tabela 3. As amostras com baixos teores de ácido carmínico, são as líquidas, isto é, tinturas de cochonilha, enquanto que as de altos teores deste ácido são pós e pasta que normalmente apresentam teores não abaixo de 42%.

Segundo a FAO/WHO³, os limites máximos de arsênico e de chumbo para este corante são de, respectivamente, 3 e 10 mg/kg. Nenhuma das amostras estudadas apresentou teores acima do permitido, como vemos na tabela 3. Os corantes artificiais não foram detectados em nenhuma destas amostras.

Corante vermelho de beterraba

Dentre as 10 amostras do corante vermelho de beterraba analisadas, as de n.ºs 31 e 34

não apresentaram características espectrofotométricas compatíveis com as do padrão, isto é, não apresentaram picos máximos característicos da betanina, o pigmento corante do vermelho de beterraba. Estas não-identidades também se verificaram para as duas amostras acima citadas, quando foi utilizado o método de cromatografia em camada delgada. Por sua vez, as amostras consideradas boas mostraram compatibilidade com o padrão, pelo mesmo método, apresentando manchas amarelas e Rf nitido de betanina.

Os teores de betanina encontrados nas amostras líquidas analisadas estavam todos abaixo dos produtos pela "FAO/WHO"³, que é de 1%, no mínimo (tabela 4). No caso de amostras em pó, o limite mínimo seria de 4%, calculado como betanina.

Os teores de arsênico e chumbo, como impurezas, estão todos dentro dos limites estabelecidos², que são respectivamente de 3 e 10 mg/kg (tabela 4).

TABELA 3

Teores de ácido carmínico, arsênico e chumbo nas amostras de corante cochonilha

Amostra n.º	Ácido carmínico %	Arsênico mg/kg (ppm)	Chumbo mg/kg (ppm)
18	50,14	0,07	0,40
19	1,38	0,02	2,51
20	46,35	0,02	2,55
21	1,84	ND *	0,26
22	0,97	ND	0,95
23	0,86	0,59	0,49
24	76,54	0,08	0,78
25	21,75	0,18	1,27
26	44,15	0,14	2,27

* ND = não detectado.

TABELA 4

Teores de betanina, arsênico e chumbo nas amostras de corante vermelho de beterraba

Amostra n.º	Betanina %	Arsênico mg/kg (ppm)	Chumbo mg/kg (ppm)
27	0,42	0,26	1,83
28	0,30	0,09	1,50
29	0,30	0,17	0,60
31	0,31	0,02	0,20
32	0,41	0,09	0,26
33	0,30	0,94	0,72
34	0,26	0,21	0,33
35	0,35	0,16	1,05
36	0,18	0,19	0,70
37	0,44	0,14	0,58

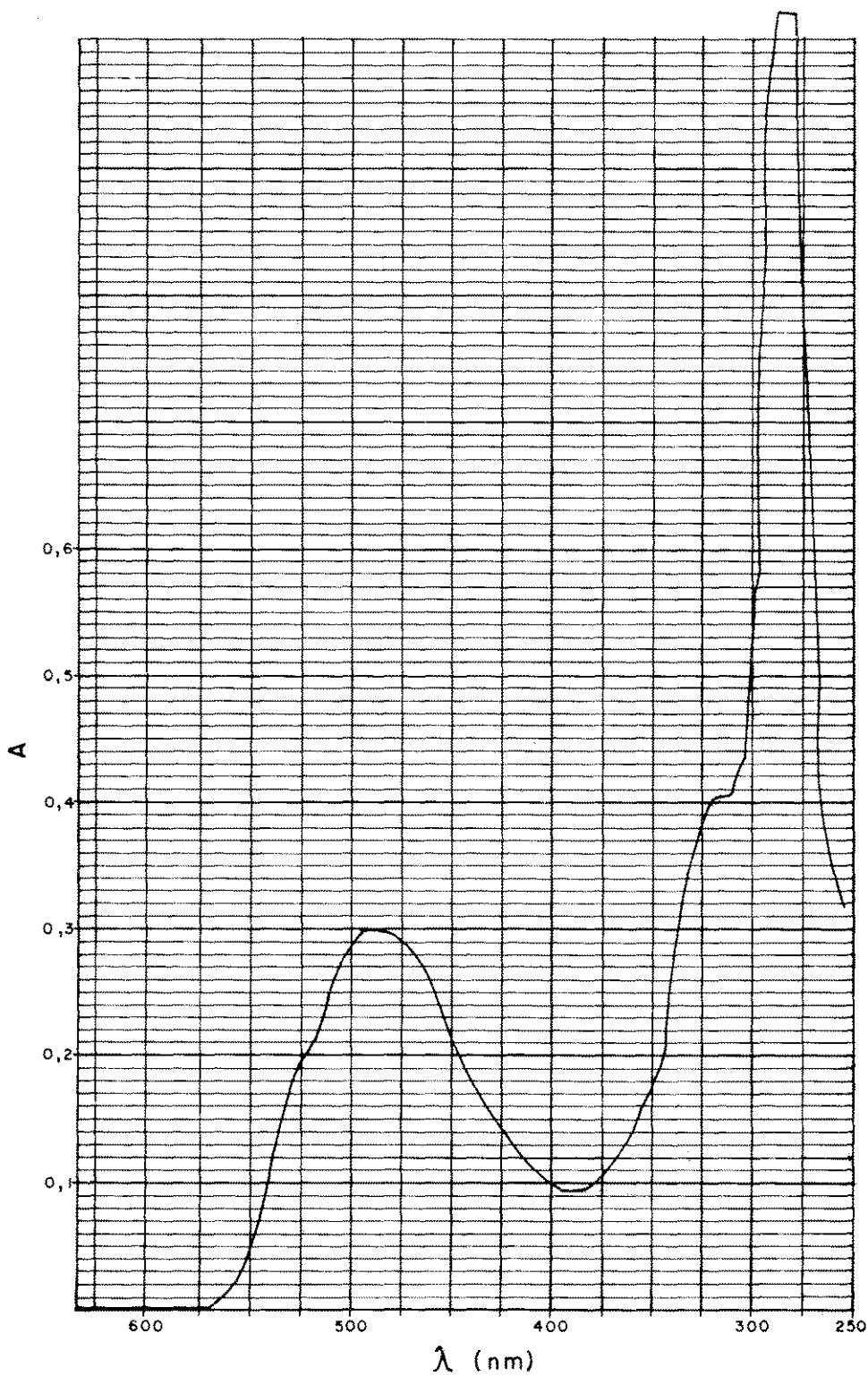


FIGURA 3 — Espectro de absorção nas regiões do ultravioleta e visível do padrão de ácido carmínico. Solução: 0,003% em ácido clorídrico 0,06 N.

Nas amostras analisadas, apesar de os teores de betanina estarem abaixo do mínimo exigido³, não se apresentaram adulterados em relação à presença de corantes artificiais.

Corante clorofilina cúprica

Quatro amostras de clorofilina cúprica foram analisadas. Duas amostras, as de n.ºs 39 e 41, mostraram espectros compatíveis com absorção máxima a 405 nm, enquanto que outras duas, as de n.ºs 38 e 40, não mostraram tal identidade. Estes fatos podem ser explicados pelos altos teores de cobre livre ionizado encontrados (tabela 5), bem acima do estabelecido pela FAO/WHO, que é de 200 mg/kg (ppm). Estes teores indicam que o processo de fabricação do referido corante não foi bem realizado, isto é, a substituição do átomo de magnésio da clorofilina nativa por átomo de cobre, na formação da clorofilina cúprica, não foi total. Esta substituição é interessante pois o corante clorofilina cúprica é muito mais estável que o pigmento de clorofila no vegetal.

A tabela 5 mostra os teores de arsênico e chumbo encontrados, bem abaixo dos estabelecidos pela "FAO/WHO"³, que são de 3 e 10 mg/kg.

Não se verificaram corantes artificiais nas amostras do corante clorofilina cúprica.

Corante antocianinas de casca de uva

Todas as quatro amostras de antocianinas analisadas mostraram absorvência máxima em torno de 525 nm, característica destes corantes. A quantificação do teor de antocianinas, que se traduz pela intensidade da cor, é mostrada na tabela 6.

Os valores de arsênico e chumbo encontrados nas amostras estudadas são apresentados na tabela 6; todos estão dentro dos limites estabelecidos pela "FAO/WHO", que são de 3 e 10 mg/kg, respectivamente³.

Neste corante natural também foi pesquisada a presença de corantes artificiais, não tendo sido estes encontrados em nenhuma das amostras analisadas.

TABELA 5

Teores de cobre livre ionizado, arsênico e chumbo nas amostras de corante clorofilina cúprica

Amostra n.º	Cobre livre ionizado %	Arsênico mg/kg (ppm)	Chumbo mg/kg (ppm)
38	1.000 — 2.000	ND *	0,65
39	abaixo de 200	ND	0,65
40	400 — 1.000	0,03	0,24
41	abaixo de 200	0,54	ND

* ND = não detectado.

TABELA 6

Valores de cor e teores de arsênico e chumbo nas amostras de corante antocianinas de casca de uva

Amostra n.º	Intensidade de cor *	Arsênico mg/kg (ppm)	Chumbo mg/kg (ppm)
30	2,51	0,09	0,80
42	52,30	ND	1,29
43	12,76	ND	0,63
50	7,85	0,12	0,84

* Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives².

CONCLUSÕES

Os dados obtidos nas condições do presente trabalho permitem concluir que:

- Entre as 17 amostras de urucum analisadas, 6 mostraram identidade com o padrão estabelecido pela FAO/WHO².
- Quanto aos teores de arsênico e chumbo, todas as amostras estavam dentro dos limites estabelecidos pela FAO/WHO, variando desde um mínimo de não-deteção até o máximo de 0,94 mg/kg para o arsênico, e um mínimo, também, de não-deteção até o máximo de 2,55 mg/kg para o chumbo.

- Duas amostras do corante cúrcuma revelaram presença de cromatos, como adulterantes das mesmas.
- Todas as 10 amostras do corante vermelho de beterraba, em solução, analisadas mostraram teor de pureza abaixo do estabelecido pela "FAO/WHO", que é de 1%.
- Teores elevados da impureza de cobre livre ionizado, nos corantes de clorofilina cúprica, bem acima do limite máximo de 200 mg/kg (ppm)², foram encontrados em duas amostras.

Há necessidade urgente no estabelecimento de Normas de Identidade e Qualidade, oficiais, para o controle dos corantes naturais permitidos pela legislação brasileira.

RIALAG/605

YABIKU, H.Y.; TAKAHASHI, M.Y.; CARUSO, M.S.F. & MENEZES, C.A.S. — A contribution to the method for controlling natural dyes for foods. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):11-18, 1986.

ABSTRACT: A total of 50 samples of natural dyes for use in Brazil products were tested regarding their meeting the requirements set by the FAO/WHO Norms of Identity and Quality. The samples tested included 17 samples of bija (*Bixa orellana*), 6 of saffron 9 of cochineal, 10 of beet red, 4 of anthocyanin from grape shell, and 4 samples of cupric chlorophyllin. Absorption spectra in the visible and ultraviolet regions were obtained for each sample. Besides, impurities such as arsenic, lead, and artificial dyes were searched for. Only 30 of the 50 samples complied with the requirements of the FAO/WHO Norms as well as those set by a Brazilian Group for the Study of Natural Dyes for Foods.

DESCRIPTORS: dyes (natural) for foods, quality control; bija (*Bixa orellana*), saffron, cochineal, beet red, grape shell anthocyanins, cupric chlorophyllin.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS — *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 13th ed. Washington, D.C., AOAC, 1980. p. 385-8.
2. JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES, Rome, 1984. *Specifications for identity and purity of buffering agents, salts; emulsifiers, thickening agents, stabilizers; flavouring agents, food colours, sweetening agents and miscellaneous food additives*. Rome, FAO, 1982. p. 22. (FAO Food and Nutrition Paper, 25)
3. JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES, Rome, 1984. *Specifications for identity and purity of food colours*. Rome, FAO, 1984. p. 23, 59, 63, 67, 87. (FAO Food and Nutrition Paper, 31/1).
4. KIGER, J.L. & KIGER, J.G. — Colorants naturels. In: GAUTIER, J.A. & MALANGEAU, P. — *Mises au point de chimie analytique organique-pharmaceutique et bromatologique*. 13^{eme} série: les colorants naturels et de synthèse a usage pharmaceutique et alimentaire. Paris, Masson, 1964. p. 97-205.
5. LARA, W.H.; SAKUMA, A.M.A. & YABIKU, H.Y. — Níveis de chumbo em alimentos infantis. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 42(1/2): 35-8, 1982.
6. MONOGRAFIAS de corantes naturais para fins alimentícios: padrões de identidade e qualidade. São Paulo, 1984. 33 p.
7. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. v. 1: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3.^a ed. São Paulo, 1985. p. 107.
8. VETTORAZZI, G.U. — *Metodi di studio di additivi e residui tossici negli alimenti*. Milano, Ermes, 1980, p. 15-20.

Recebido para publicação em 23 de janeiro de 1986.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1940-1984), DESAFIOS DE UM LABORATÓRIO DE SAÚDE PÚBLICA

Pedro Paulo CHIEFFI *
Eliseu Alves WALDMAN *

RIALA6/606

CHIEFFI, P.P. & WALDMAN, E.A. — Instituto Adolfo Lutz (1940-1985), desafios de um laboratório de Saúde Pública. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):19-25, 1986.

RESUMO: São apresentados, de maneira resumida, os principais marcos históricos do Instituto Adolfo Lutz (IAL), salientando o papel dessa instituição na busca de soluções para os problemas de saúde pública do Estado de São Paulo, desde o final do século XIX. São abordados temas de interesse atual como, por exemplo, a participação da rede estadual de laboratórios de saúde pública na assistência médica primária e na vigilância epidemiológica e sanitária. É salientada a crescente importância dos laboratórios regionais do IAL, que hoje imprimem à instituição forte caráter de órgão prestador de serviços à comunidade. É enfatizada a necessidade de definição precisa das linhas de pesquisa básica e aplicada a serem desenvolvidas pelo IAL nos próximos anos, assim como garantir que ambas estejam comprometidas com o aprimoramento da prestação de serviços à comunidade.

DESCRITORES: laboratórios de Saúde Pública; Saúde Pública, planejamento de serviços de saúde.

A situação sanitária do Estado de São Paulo, ao final do século XIX, caracteriza-se por ser de extrema precariedade. Ao lado de outras doenças de caráter transmissível, a febre amarela surgia como agravo de inusitada importância à saúde da população local e, especialmente, dos contingentes de imigrantes que, através do porto de Santos, chegavam em grandes levas.

No período compreendido entre 1880 e 1894, somente no município de Santos, 5.429 pessoas morreram de febre amarela. Durante o ano de 1894, nesta mesma cidade que então contava com aproximadamente 30.000 habitantes, verificou-se elevadíssima taxa de mortalidade, atingindo 1.400 óbitos, representando índice de 48 óbitos para cada 1.000 habitantes, quase o dobro do ocorrido no município de São Paulo, no mesmo ano.³

Tal situação, além de constituir-se em carga excessiva à população, ameaçava pôr em risco a política de incentivo à vinda de

imigrantes europeus para atuarem como mão-de-obra na lavoura cafeeira, setor mais dinâmico da economia na época. Pressionado pelas circunstâncias, o governo do Estado determina em 18-7-1892, através da Lei n.º 43, a organização do Serviço Sanitário que já existia, embora com funcionamento irregular, desde 1884, como Inspetoria de Higiene⁵. Paralelamente, o governo autorizava o gasto da quantia de duzentos contos de réis para a instalação de diversos laboratórios, entre os quais situava-se um laboratório de bacteriologia que veio a constituir o Instituto Bacteriológico, embrão, juntamente com o Laboratório Bromatológico, do atual Instituto Adolfo Lutz.

No ano seguinte, procurando implementar medidas na esfera sanitária, Bernardino de Campos, Presidente do Estado de São Paulo, sancionou lei que reorganizava o Serviço Sanitário e ampliava as funções do recém-criado Instituto Bacteriológico. Tornavam-se,

* Da Divisão de Biologia Médica do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

então, suas atribuições específicas o estudo bacteriológico de epidemias, endemias e epizootias, o preparo de vacinas e os exames necessários ao diagnóstico clínico de doenças. A mesma lei encarregou-se, também, de estabelecer o quadro de pessoal do Instituto Bacteriológico: 1 diretor, 3 assistentes e 2 serventes.³

Imediatamente após a criação do Instituto Bacteriológico o governo paulista solicitou de Pasteur, eminente bacteriologista francês, indicação para a chefia do laboratório. Desta forma, Félix Le Dantec, antigo aluno e assistente de Pasteur, é nomeado, em 15-12-1892, o primeiro diretor do Instituto Bacteriológico de São Paulo².

Por motivos obscuros, é curta a permanência de Le Dantec à testa do Instituto Bacteriológico. Em 5-4-1893, o bacteriologista francês retorna a seu país, sendo substituído na direção do Instituto Bacteriológico por Adolfo Lutz, que até então ocupava a vice-diretoria.

Em novembro de 1896, o Instituto Bacteriológico, ainda instalado improvisadamente na área central da cidade, é transferido para o Hospital de Isolamento, em prédio de dois pavimentos, onde consegue acomodar melhor seus laboratórios. No dizer de Nancy Stepan, cria-se então o primeiro laboratório nacional moldado em bases modernas.⁶

Ao encerrar-se o século XIX, o Instituto Bacteriológico conseguiria impor seu prestígio, mercê da atuação de seus integrantes em surtos de cólera ocorridos entre 1893 e 1895, ao esclarecer a etiologia das “febres paulistas” e auxiliar a debelar a epidemia de peste que grassou em 1899 na cidade de Santos³.

Nos primeiros anos do século XX, cabe ao pessoal do Instituto Bacteriológico, comandado por Adolfo Lutz e Carlos Meyer, realizar, na cidade de São Paulo, experiências que serviram para comprovar cabalmente a teoria Finlay de transmissão da febre amarela através de artrópodes.

Até novembro de 1908, Adolfo Lutz permanece à frente do Instituto Bacteriológico, ocasião em que se afasta para transferir-se para o Instituto Oswaldo Cruz, no Rio de Janeiro. Seu lugar é ocupado por Carlos Luís Meyer².

A resolução dos principais problemas sanitários que afligiam o Estado de São Paulo fez com que diminuíssem os investimentos no setor saúde. Destas circunstâncias ressentir-se-á o Instituto Bacteriológico que, na segunda década do século XX, fora considerado por Martim Ficker, bacteriologista alemão contratado como consultor pelo governo paulista, como um laboratório que já não possuía instalações e equipamentos apropriados aos fins a que se destinava⁶.

Uma reforma parcial, em 1914, sob a supervisão de Ficker, melhora a situação do

Instituto Bacteriológico. Todavia, o antigo prestígio não seria recuperado e, em 11-6-1925, pelo Decreto 3.876, que reorganizava o Serviço Sanitário, todos os laboratórios de pesquisa e produção do Estado, entre estes o Instituto Bacteriológico, são localizados no Instituto Butantan. Somente em 1931, por influência de Artur Neiva, então Secretário do Interior, é que o Instituto Bacteriológico retornou à vida própria, desmembrando-se do Instituto Butantan.^{2, 3}

Novo capítulo no histórico dos laboratórios de Saúde Pública no Estado de São Paulo inicia-se no ano de 1940, quando, através do Decreto 11.522, de 26 de outubro, unificam-se os Institutos Bacteriológico e Bromatológico, criando-se, desta forma, o Instituto Adolfo Lutz^{2, 3}.

Há, inicialmente, aumento considerável de pessoal e melhora sensível nas instalações e equipamentos, lançando-se as bases de moderno laboratório voltado para o atendimento dos problemas de Saúde Pública do Estado.

Com o passar dos anos, o Instituto Adolfo Lutz sofre transformações em sua estrutura e, graças ao trabalho desenvolvido por seus técnicos e funcionários, consegue o reconhecimento no âmbito sanitário estadual e nacional. Em 1951, o Instituto Adolfo Lutz passa a apresentar uma estrutura regionalizada e hierarquizada de laboratórios e, em 1952, com o auxílio do CNPq, organiza-se o primeiro laboratório de referência nacional, com a criação do “Centro Brasileiro de Enterobacteráceas”, para fornecer soros destinados à diagnose específica de bactérias dos gêneros *Shigella* e *Salmonella*.

Nas décadas de 1950 e 1960, verifica-se o esforço da instituição no sentido de construir as bases daquela que constitui hoje a rede estadual de laboratórios de saúde pública melhor estruturada do país, seja sob o ponto de vista da quantidade e qualidade dos recursos humanos que conseguiu arregimentar e preparar, seja pela suas instalações e equipamentos. O resultado do trabalho desenvolvido nesse período propiciou ao Instituto Adolfo Lutz condições suficientes para, na área de prestação de serviços, apresentar uma produção igual ou não-significativamente inferior à soma da produção de todos os demais laboratórios estaduais de saúde pública da Federação, sem que tal sobrecarga o impedisse de situar-se, na sua área de atividade, entre os importantes centros de pesquisa aplicada do país.

Em decorrência das contribuições científicas de cunho clínico-epidemiológico e laboratorial realizadas por pesquisadores desta Instituição e relativas aos *Poxvirus*, publicadas e premiadas entre 1955-66, tanto no País como no estrangeiro, em 1967 o Instituto Adolfo Lutz foi designado pelo Ministério da Saúde como Laboratório de Referência para Varíola no Brasil, na vigência da

Campanha Nacional de Erradicação da Varíola.

Em 1970, em conseqüência da reforma administrativa da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, decretada no ano anterior, o Instituto Adolfo Lutz assume sua estrutura atual, com quatro divisões técnicas, formando o Laboratório Central, uma Divisão de Laboratórios Regionais e a Divisão Administrativa (vide organograma, na página 21).

Os anos 70 propiciaram ao Instituto Adolfo Lutz experiências especialmente interessantes. No período de 1971 a 1975, o Estado de São Paulo sofreu uma das maiores epidemias de doença meningocócica registradas na literatura mundial, fato que deu ensejo aos técnicos do Instituto Adolfo Lutz de prestarem relevantes serviços à saúde pública de nosso Estado, assim como de assessorarem equipes de laboratórios de saúde pública de outros Estados da Federação e de outros países da América Latina⁷. A experiência adquirida nessa época situou o Instituto Adolfo Lutz numa posição de liderança que foi consagrada, em 1982, pelo Ministério da Saúde, com sua transformação em Laboratório de Referência Nacional para o diagnóstico de meningites bacterianas.

De 1975 a 1977, ocorreu na Região do Vale do Ribeira a primeira epidemia de encefalite causada por arbovírus registrada em nosso Estado. Este episódio deu oportunidade ao Instituto Adolfo Lutz de prestar significativa contribuição, especialmente por meio de um dos seus mais experientes pesquisadores, o Dr. Oscar de Souza Lopes, que, com o apoio da equipe de pesquisadores da Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes, obteve êxito no isolamento e identificação do seu agente causador, o Vírus Rocío⁴.

Ao final de 1976, o Instituto Adolfo Lutz inicia um processo de ampliação de sua rede, que contava nessa época com 9 Laboratórios I e 7 Laboratórios II e atingiu, em 1984, 12 Laboratórios I, 10 Laboratórios II e 24 Laboratórios Locais. Nesta fase de ampliação devem ser assinalados dois marcos: um, em 1979, com a unificação de todos os laboratórios de Saúde Pública do Estado, sob o comando técnico e administrativo do Instituto Adolfo Lutz, e o segundo, representado pelo Decreto n.º 22.339, de 1984, que reestruturou a Divisão de Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz, incluindo formalmente em seu organograma as novas unidades criadas. Tais fatos conferem contornos mais nítidos às responsabilidades da instituição em face da assistência médica primária, sem, no entanto, relegar a segundo plano seu papel tradicional, relativo ao suporte laboratorial dos Sistemas de Vigilância Epidemiológica e Sanitária.

Coincidentemente, nessa mesma época ocorre a nível nacional a implantação do Sistema

Nacional de Laboratórios de Saúde Pública, coordenada pelo Ministério da Saúde, com a instalação, no período 1976/1979, de 515 unidades laboratoriais, nos três níveis de complexidade — Central, Regional e Local —, distribuídas em praticamente todos os Estados da Federação.

Neste episódio, o Instituto Adolfo Lutz desempenhou o papel de Laboratório Nacional de Saúde Pública, treinando 484 técnicos, dos quais 260 de Nível Universitário, pertencentes aos quadros funcionais das diversas redes Estaduais de Laboratórios de Saúde Pública do país. A estrutura do Instituto Adolfo Lutz foi utilizada, em seus pontos principais, pelo Ministério da Saúde como modelo para as Redes Estaduais¹.

A partir de 1980, o Ministério da Saúde dividiu o território Nacional em cinco regiões, designando para cada uma delas um Laboratório Nacional de Saúde Pública. Nesta nova estrutura coube ao Instituto Adolfo Lutz, como área de abrangência, os Estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Rondônia, Goiás e Distrito Federal.

Finalmente, pode-se verificar que em sua história recente o Instituto Adolfo Lutz conseguiu projetar-se nacionalmente como um dos principais laboratórios de saúde pública do país, situando-se ainda em posição destacada no âmbito da América Latina, região para a qual foi designado pela Organização Pan-americana de Saúde como laboratório colaborador nas áreas de arbovírus, vírus da Influenza, produção de imunobiológicos para diagnóstico e pesquisa de resíduos de pesticidas e metais pesados em alimentos.

Apresentados de forma resumida, os principais marcos referenciais que caracterizaram o Instituto Adolfo Lutz, desde suas origens até os dias atuais, parece-nos indispensável uma análise pormenorizada da atuação da instituição como Laboratório Estadual de Saúde Pública, no correr dos últimos anos, com o intuito de estabelecer algumas diretrizes que poderão constituir tema de discussões internas da instituição e desta com os demais setores da Secretaria da Saúde.

A série histórica da produção de serviços pelo Instituto Adolfo Lutz referente ao período de 1976 a 1984 (tabela) demonstra duplicação do número de exames realizados nesse espaço de tempo, com ampliação da participação dos laboratórios regionais que, de responsáveis por cerca de 66,0% da produção total do Instituto Adolfo Lutz no início do período, atingem quase 85% em 1984.

Tal comportamento demonstra que a atividade de prestação de serviços ampliou seu peso específico na instituição, podendo-se afirmar que a mesma representa a principal característica do Instituto Adolfo Lutz. Por outro lado, a descentralização da prestação de serviços, principalmente com a criação de

TABELA

Exames realizados pelo Instituto Adolfo Lutz, discriminados conforme locais de execução, no período de 1976 a 1984

Ano	Laboratório Central	Laboratórios Regionais	Total
1976	422.640	828.443	1.251.083
1977	495.241	876.578	1.371.019
1978	462.994	1.175.327	1.638.321
1979	346.201	1.257.629	1.603.830
1980	329.028	1.369.901	1.690.829
1981	343.684	1.532.807	1.876.491
1982	346.237	1.595.833	1.942.070
1983	422.949	1.733.753	2.156.702
1984	440.974	2.064.521	2.505.495

Fonte: Relatórios anuais do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo.

novas unidades laboratoriais na Região da Grande São Paulo, deu oportunidade ao Laboratório Central de desobrigar-se de parcela considerável dos exames de rotina, permitindo maior disponibilidade para uma mudança no perfil profissional de seu quadro de funcionários e o progressivo desenvolvimento de áreas mais especializadas, ampliando o espaço para a implementação de atividades de pesquisa, especialmente a aplicada, que deve ter como principal objetivo o aprimoramento das atividades de prestação de serviço à comunidade.

Cumprе salientar que as atividades de pesquisa no Instituto Adolfo Lutz foram fortalecidas com a criação da carreira de pesquisador científico em 1976 e com sua consolidação em 1984, propiciando o acesso a importante segmento dos seus profissionais de nível universitário.

O principal desafio que a instituição enfrenta na atualidade consiste justamente na conciliação das atividades de rotina, voltadas à prestação de serviço, às de pesquisa e, em relação a estas últimas, no delineamento de forma correta e precisa de suas linhas prioritárias, definindo-se o papel e a dimensão adequada da pesquisa básica. Não resta dúvida, porém, que o divórcio das atividades de prestação de serviço em relação à pesquisa e entre a pesquisa básica e aplicada redundará na falência da instituição. Em outros termos, o futuro do Instituto Adolfo Lutz como laboratório de Saúde Pública do Estado de São Paulo estará condicionado a uma trajetória convergente das atividades de pesquisa básica e aplicada e as de prestação de serviço.

Neste ponto, cumprе salientar as nítidas mudanças ocorridas no setor de prestação de serviços do Instituto Adolfo Lutz, decorrentes da progressiva integração da rede de centros de saúde do Estado às atividades voltadas à assistência médica primária, uma vez que esta proposta de trabalho implica em suporte

laboratorial de dimensões significativamente superiores àquele que o Sistema Estadual de Laboratórios de Saúde Pública está em condições de oferecer e com um perfil bem distinto daquele até aqui apresentado, em que as prioridades estavam voltadas à Vigilância Epidemiológica e Sanitária e aos programas e subprogramas de saúde.

A necessidade verificada nos últimos anos, em nosso País, de estender a cobertura dos serviços básicos de saúde a amplos segmentos da população, determinou consideráveis modificações nas conceituações teóricas e nas práticas desenvolvidas no setor saúde, alterando sobremaneira as atribuições tradicionais da área de saúde pública que passa a responsabilizar-se por importante parcela da assistência médica. No entanto, este comportamento nos parece decorrer de uma situação conjuntural e, à medida que se faça o adequado delineamento das responsabilidades do setor estatal nas atividades voltadas à assistência médica ou, mais precisamente, à medida que se fortaleça o papel do município neste setor, caberão à Secretaria de Saúde do Estado principalmente atribuições de planejamento e normatização da assistência médica primária, restando como atividades executivas à Secretaria de Estado da Saúde os níveis secundário e terciário da assistência médica e as atividades voltadas à Vigilância Epidemiológica e Sanitária.

Caso aceitemos como correta a linha de raciocínio desenvolvida no último parágrafo, verificaremos que a mesma constitui mais um argumento favorável à progressiva municipalização dos serviços de laboratório voltados ao suporte de assistência médica primária e à progressiva diminuição da rede de laboratórios do Instituto Adolfo Lutz, de forma a constituir-se exclusivamente de unidades de maior complexidade, com atribuições voltadas principalmente à Vigilância Epidemiológica e Sanitária, constituindo-se em unidade de referência para os laboratórios municipais. Para

que esse objetivo seja atingido é indispensável que os Laboratórios de Saúde Pública do Estado se organizem em um sistema regionalizado e hierarquizado, submetido a uma mesma linha de mando técnico e administrativo.

No sentido de que o Instituto Adolfo Lutz volte a desempenhar principalmente atividades nas suas áreas de atribuição tradicionais, como oferecer suporte laboratorial ao Sistema de Vigilância Epidemiológica e Sanitária e desenvolver atividades de pesquisa, será necessária a implementação de algumas medidas, como a alteração do perfil profissional das equipes de nível universitário dos laboratórios regionais, hoje essencialmente formadas por técnicos com experiência em grandes áreas, como análises clínicas, microbiologia, imunologia e bromatologia, de forma a permitir a existência de profissionais com maior grau de especialização. Ainda com referência à participação do Instituto Adolfo Lutz nas atividades relacionadas à Vigilância Epidemiológica e Sanitária, será necessária a formação de elementos adequadamente preparados para servirem de elo de ligação entre o laboratório e os dois setores citados.

No que tange à pesquisa é indispensável definição precisa das linhas a serem desenvolvidas nas áreas aplicada e básica, devendo a distribuição ser feita de tal forma que esta última constitua um sistema de retroalimentação da primeira e ambas estejam comprometidas com o aprimoramento da prestação de serviços à comunidade. Para que esta proposta alcance bons resultados é fundamental o estabelecimento de maior intercâmbio com outras instituições voltadas ao ensino e pesquisa, tanto nacionais como estrangeiras, de forma a garantir ao Instituto Adolfo Lutz fácil e rápido acesso aos novos conhecimentos científicos e tecnológicos. Um ponto que merece ser salientado é a necessidade de se esta-

belecerem mecanismos, possivelmente através da carreira de pesquisador científico, que permitam o ingresso, nos quadros efetivos da instituição, de profissionais de comprovada experiência e capacidade, em situação compatível com seus títulos universitários e produção científica.

Merece destaque a necessidade de modernização das áreas de infra-estrutura do Instituto Adolfo Lutz, especialmente o Biotério, as Seções de Coleção de Culturas, de Culturas Celulares, de Produção de Meios de Cultura, além da implantação de laboratórios que utilizem técnicas até agora não-incorporadas pela instituição, como as de biologia molecular e de engenharia genética, que têm ampla aplicação tanto em diagnóstico, como na produção de reagentes biológicos. É igualmente necessária, e decorrência natural das medidas acima enumeradas, a definição de uma política de prioridades para o setor de biotecnologia, que constitui amplo campo de trabalho onde, sem dúvida, o Instituto Adolfo Lutz poderá prestar importantes serviços à saúde pública nacional, especialmente no desenvolvimento de tecnologia aplicada à produção de imunobiológicos para diagnóstico.

Apresentadas as experiências passadas e os desafios que atualmente se impõem ao Instituto Adolfo Lutz para manter em níveis técnicos elevados as atividades ora desenvolvidas e, ainda, para que possa atingir neste final de século o estágio de moderna instituição de pesquisa na área da saúde pública, é necessário que seus dirigentes consigam assimilar o acervo de quase um século de experiências acumuladas, que possuam sensibilidade e agilidade para compreenderem a problemática e as prioridades atuais do setor saúde, além da liderança e o discernimento para compatibilizarem as aparentes contradições entre os setores de pesquisa e de prestação de serviços.

RIALA6/606

CHIEFFI, P.P. & WALDMAN, E.A. — Instituto Adolfo Lutz (1940-1984), the challenges of a Central Public Health Laboratory. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):19-25, 1986.

ABSTRACT: The main historical events of the operation of Instituto Adolfo Lutz (IAL), Central Public Health Laboratory of the State of São Paulo are briefly presented. The role of this Institution in tackling the State's public health problems since the end of the 19th Century are reviewed. Approaches to the present-day important tasks such as participation in the basic medical care and in the epidemiological-sanitary surveillance are reported. The increasing importance of the network of the IAL regional laboratories is stressed. At the present time, these laboratories represent a main help in community medicine programs. The need of an accurate definition of the basic and applied research to be carried out by IAL is also stressed.

DESCRIPTORS: Public Health laboratories; Public Health, Service planning.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Ações Básicas da Saúde. Divisão Nacional de Laboratórios de Saúde Pública — *Rede de Laboratórios de Saúde Pública: estrutura básica*. Brasília, DNLS/MS/SNABS/MS, 1980. 43 p.
2. CALAZANS, S. — Laboratórios de Saúde Pública, sua criação e desenvolvimento em São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 16: 85-135, 1956.
3. LEMOS, F.C. — Contribuição à história do Instituto Bacteriológico, 1892-1940. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 14 (n.º esp.): 1-161, 1954.
4. LOPES, O.S.; COIMBRA, T.L.M.; SACCHETTA, L.A. & CALISHER, C.H. — Emergence of a new arbovirus disease in Brazil. I — Isolation and characterization of the etiologic agent, Rocio virus. *Am. J. Epidemiol.*, 107:444-9, 1978.
5. MASCARENHAS, R.S. — *Contribuição para o estudo da administração sanitária em São Paulo*. São Paulo, 1949. 565 p. [Tese livre-doc. Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo]
6. SALLES-GOMES, L.F.; ANGULO, J.J.; MENENDES, E. & ZAMITH, V.A. — Clinical variola minor in a ward outbreak. *J. Hyg., Camb.*, 63:49-58, 1965.
7. STEPAN, N. — *Gênese e evolução da ciência brasileira. Oswaldo Cruz e a política de investigação científica e médica*. Rio de Janeiro, Artenova, 1976. p. 126-42.
8. TAUNAY, A.E.; GALVÃO, P.A.; MORAIS, J.S.; GOTSCHLICH, E.C. & FELDEMAN, R.A. — Disease prevention by meningococcal serogroup C polysaccharide vaccine in preschool children: results after eleven months in São Paulo, Brazil. *Pediatr. Res.*, 8:429, 1974.

Recebido para publicação em 23 de janeiro de 1986.

EXPERIÊNCIAS DA REDE DE LABORATÓRIOS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ EM ÉPOCA RECENTE (PERÍODO 1976-1984): SUBSÍDIOS PARA A ELABORAÇÃO DE NOVAS DIRETRIZES PARA O SISTEMA ESTADUAL DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA

Eliseu Alves WALDMAN *
José Benício N. MIRANDA **

RIALA6/607

WALDMAN, E.A. & MIRANDA, J.B.N. — Experiências da rede de laboratórios do Instituto Adolfo Lutz em época recente (período 1976-1984). Subsídios para a elaboração de novas diretrizes para o Sistema Estadual de Laboratórios de Saúde Pública. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):27-43, 1986.

RESUMO: Após breve histórico, é apresentada uma avaliação do desempenho da rede de laboratórios regionais do Instituto Adolfo Lutz (IAL) relativa ao período 1976-1984, na qual são abordados aspectos da política implementada durante essa fase, especialmente, o da descentralização da colheita de amostras ao nível de cada centro de saúde e centralização da execução de exames em laboratórios localizados em municípios-sede de Distrito Sanitário e o da maior integração das atividades da rede de Laboratórios de Saúde Pública às demais instituições do setor saúde e, particularmente, àquelas responsáveis pelo desenvolvimento dos programas e subprogramas de saúde e pela vigilância sanitária e epidemiológica. Após essa análise, é referida a necessidade do estabelecimento de nova política para a rede estadual de laboratórios de saúde pública, particularmente, a partir de 1984, com a apresentação de uma definição mais precisa do sistema de assistência médica primária a ser implantado no Estado de São Paulo. Como subsídio ao debate de tema tão polêmico, é defendida a tese da progressiva municipalização das unidades responsáveis pelo suporte laboratorial da rede básica de assistência médica, com a manutenção, sob a responsabilidade técnica e administrativa do IAL, dos laboratórios regionais de maior porte, que ficariam com a atribuição de oferecer retaguarda laboratorial aos sistemas de vigilância epidemiológica e sanitária e referência técnica aos laboratórios municipais.

DESCRIPTORIOS: laboratórios de Saúde Pública; Saúde Pública, planejamento de de serviços de saúde.

INTRODUÇÃO

A descentralização dos serviços laboratoriais da Administração Sanitária do Estado de São Paulo, apesar de já prevista pela reforma elaborada por Paulo Souza, em 1923, somente teve início em 1938, com a instalação de laboratórios locais em postos de saúde. Esse processo teve continuidade em 1943, com a criação dos laboratórios regionais do Instituto Adolfo Lutz (IAL) que, por sua vez, tiveram origem nos antigos Postos Bromatológicos do então Serviço de Policiamento da Alimentação Pública ^{6, 7, 8, 15}. Segundo o de-

creto que os criou, os laboratórios regionais do Instituto Adolfo Lutz deveriam localizar-se nos municípios-sede das Delegacias Regionais de Saúde do Estado, ficando subordinados técnica e administrativamente ao IAL, enquanto que os laboratórios locais permaneceriam subordinados aos postos de saúde, configurando uma situação de duplicidade de atividades que perdurou por várias décadas, dificultando sobremaneira uma clara definição de atribuições do IAL e, portanto, do desempenho do sistema de apoio laboratorial como um todo ^{8, 15, 18}.

* Da Divisão de Biologia Médica do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

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

Analisando os primeiros anos de atividade dos laboratórios regionais do IAL, verificaremos que, com a implantação das Unidades de Santos, Ribeirão Preto, Campinas e Taubaté, no período 1943-1951 e com a promulgação de lei, em 1951, que conferia uma estrutura hierarquizada para o IAL com laboratórios de complexidade técnica crescente, estabeleceram-se as bases para a consolidação da rede de laboratórios de Saúde Pública do Estado de São Paulo⁸.

Já em seu início, alguns laboratórios regionais destacaram-se com trabalhos de repercussão no campo da Saúde Pública, salientando-se aqueles desenvolvidos pelos laboratórios de Santos, Campinas e Taubaté nas décadas de 1940 e 1950, com relevantes estudos a respeito da importância da esquistossomose em nosso Estado^{1. 9. 10. 11. 12}.

A primeira tentativa de unificação de todos os laboratórios de Saúde Pública do Estado de São Paulo sob um único comando deu-se em 1957 quando, através de um decreto governamental, se estabeleceu a subordinação técnica dos laboratórios locais dos postos de saúde, que totalizavam 45 unidades, ao IAL, sem, no entanto, alterar a subordinação administrativa¹³. Essa medida, apesar de importante pelo seu caráter racionalizador, não obteve o êxito esperado, por uma série de razões, merecendo destaque a falta de diretrizes que estabelecessem atribuições claras e precisas para um sistema de laboratórios de Saúde Pública do Estado¹⁸.

A década de 1970, com a reforma administrativa da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, que permitiu entre outras medidas a criação da Divisão de Laboratórios Regionais do IAL e a extinção dos chamados "órgãos verticais" da Secretaria da Saúde, substituídos por Centros de Saúde polivalentes, deu ensejo, a partir de 1975, a estudos visando a implantação de programas de saúde adequados à nova estrutura da Secretaria¹⁴. Nesta oportunidade, voltam à baila as antigas discussões a respeito da conveniência ou não da manutenção de duas redes paralelas de laboratórios de Saúde Pública, uma pertencente ao IAL e outra formada exclusivamente de laboratórios locais, dirigidas pelos centros de saúde¹⁸.

Para uma decisão final em face dessa polémica, constituíram argumentos importantes a necessidade de um sistema que garantisse a utilização de técnicas padronizadas e a existência de infra-estrutura técnico-administrativa que mantivesse a regularidade e a qualidade dos serviços prestados. Esses debates levaram a uma decisão do Sr. Secretário da Saúde, em 1979, de subordinar técnica e administrativamente os laboratórios locais à Divisão de Laboratórios Regionais do IAL, unificando, portanto, o Sistema Estadual de Laboratórios de Saúde Pública¹⁶.

Dos debates acima referidos, originam-se as bases da política seguida pela rede de laboratórios do IAL, durante o período 1977-1984, que pode ser resumida na progressiva integração de seus serviços aos desenvolvidos pela rede de unidades sanitárias do Estado, com ênfase na implantação dos programas e subprogramas de saúde e da Vigilância Epidemiológica e Sanitária¹⁸. Para que alcançassem seu objetivo, estabeleceu-se como meta, em termos operacionais, a descentralização da coleta de amostras até o nível de cada centro de saúde e a maior centralização possível na execução dos exames, com a criação simultânea de fluxos ágeis de encaminhamento de amostras e retorno rápido dos resultados.

Ainda na operacionalização dessa política, estabeleceram-se dois critérios distintos para a criação e funcionamento dos laboratórios. Por um lado, a Região da Grande São Paulo, pelas suas características de alta densidade demográfica, deveria ter de 6 a 7 laboratórios regionais de médio porte, equivalentes em estrutura a um laboratório II, todos estrategicamente situados, além de um laboratório I, que daria suporte a essas unidades menores. De outra parte, as demais regiões administrativas do Estado deveriam possuir, a médio prazo, um laboratório em cada Distrito Sanitário, ficando a complexidade dessas unidades condicionada às características da assistência médica prestada e à densidade demográfica e grau de desenvolvimento da região¹⁸.

Em decorrência da nova política implantada a partir de 1977, houve ampliação da rede de laboratórios regionais do IAL que de 16 unidades existentes, naquele ano, passa a contar com 48, em 1984 (fig. 1 e 2, p. 30). Durante esse período, foram criados o Laboratório I de Registro, 5 laboratórios II na área metropolitana e 26 laboratórios locais nas demais regiões administrativas do Estado e, ainda, elevados da categoria de Laboratório II para Laboratório I as Unidades de Marília e Santo André.

A localização e as datas de criação dos Laboratórios Regionais I e II do IAL são relacionados a seguir:

<i>Laboratórios Regionais I</i>	<i>Ano</i>
1. Santos	1944
2. Ribeirão Preto	1947
3. Campinas	1948
4. Taubaté	1951
5. Bauru	1953
6. São José do Rio Preto	1956
7. Presidente Prudente	1956
8. Santo André	1958
9. Araçatuba	1958
10. Marília	1959
11. Sorocaba	1972
12. Registro	1977

Laboratórios Regionais II

1. Itapetininga	1956
2. Botucatu	1957
3. Franca	1962
4. São Carlos	1963
5. São Caetano	1965
6. Santa Cecília	1976
7. Penha	1976
8. Santo Amaro	1977
9. Osasco	1978
10. São Miguel Paulista	1984

Laboratórios Locais de *Ano*

1. Adamantina	1977
2. Lorena	1978
3. Guaratinguetá	1978
4. São José dos Campos	1978
5. Tatuí	1978
6. São João da Boa Vista	1978
7. Casa Branca	1978
8. Piracicaba	1978
9. Mogi-Mirim	1978
10. Barretos	1978
11. Lins	1978
12. Jaú	1978
13. Catanduva	1978
14. Fernandópolis	1978
15. Presidente Venceslau	1978
16. Tupã	1979
17. Itapeva	1979
18. Caraguatatuba	1981
19. Dracena	1981
20. Ourinhos	1981
21. Jundiá	1982
22. Assis	1982
23. Rio Claro	1983
24. São José do Rio Pardo	1984
25. Apiaí	1984
26. Penápolis	1984

Analisando o comportamento dos laboratórios, no período 1977-1984, verificaremos que sua produção aumentou, aproximadamente, duas vezes e meia, abrangendo atualmente mais de 80% da produção do Instituto Adolfo Lutz, enquanto na primeira década de sua existência, não ultrapassava 25% da produção total. Tal verificação nos permite afirmar que hoje a Divisão de Laboratórios Regionais imprime à instituição um caráter, predominantemente, de prestação de serviço, situando a pesquisa num plano de apoio a esta atividade.

Registramos também, para o mesmo período, um aumento no quadro de funcionários da Divisão de Laboratórios Regionais de, aproximadamente, 67,4%, que se fez sentir principalmente nas categorias técnicas. Vale

salientar que a partir de 1980, apesar de a produção continuar a aumentar no mesmo ritmo, o quadro de funcionários, praticamente, permaneceu o mesmo, com óbvias repercussões negativas para a prestação de serviços (tabela 1).

O período 1977-1984 não apresentou somente uma alteração quantitativa dos serviços prestados pelos laboratórios regionais do IAL, mas também qualitativa, como podemos verificar pela modificação do perfil da prestação de serviços e, de modo particular, na área de bacteriologia, que aumentou em 346,3% sua produção e, em termos relativos, passou de 4,6% em 1977 para 8,8% em 1984, enquanto outras áreas, como a parasitologia, caiu proporcionalmente de 49,1% para 31,4%, nas mesmas épocas (tabela 2).

Vale salientar que, em 1984, 75,2% dos exames bacteriológicos realizados destinaram-se aos subprogramas de tuberculose e hanseníase, enquanto, no mesmo ano, 69,3% dos exames sorológicos pertenciam à rotina do programa de saúde materna e ao controle laboratorial de "doadores de sangue" (tabelas 3 e 4). As áreas de análises clínicas e hematologia, por sua vez, tiveram, em 1984, cerca de 32% dos exames destinados ao programa de Saúde Materna.

A participação da rede de laboratórios do Instituto Adolfo Lutz nos programas de Saúde Materna, nos subprogramas de controle da tuberculose e hanseníase e, ainda, em relação ao controle laboratorial de "doadores de sangue", está apresentada nas tabelas 5, 6, 7, 8.

Outra forma de avaliarmos o desempenho da rede de laboratórios do IAL é por meio da análise da cobertura oferecida às unidades sanitárias do Estado. Sob este aspecto, verificamos que os laboratórios regionais, em 1976, prestavam serviços a, aproximadamente, 36,0% dos centros de saúde do Estado, sendo que em 1984 esta proporção atingiu 97,5% (tabela 9). Esta informação ainda que mereça ser complementada por outras que discriminem a quantidade e variedade de tipos de exames solicitados, constitui um indicador da viabilidade da proposta de descentralização da coleta de amostras ao nível de cada unidade sanitária e centralização da execução dos exames, com a criação de fluxos ágeis de encaminhamento das amostras e de retorno de resultados.

Por outro lado, se analisarmos informações referentes à "cobertura" oferecida aos subprogramas de controle da tuberculose e hanseníase (tabelas 10 e 11) obteremos um indicador mais sensível, que nos permitirá não só avaliar o caráter dos serviços prestados pela rede de laboratórios, como também, indiretamente, a implantação da própria programação nos centros de saúde das diversas regiões administrativas do Estado.

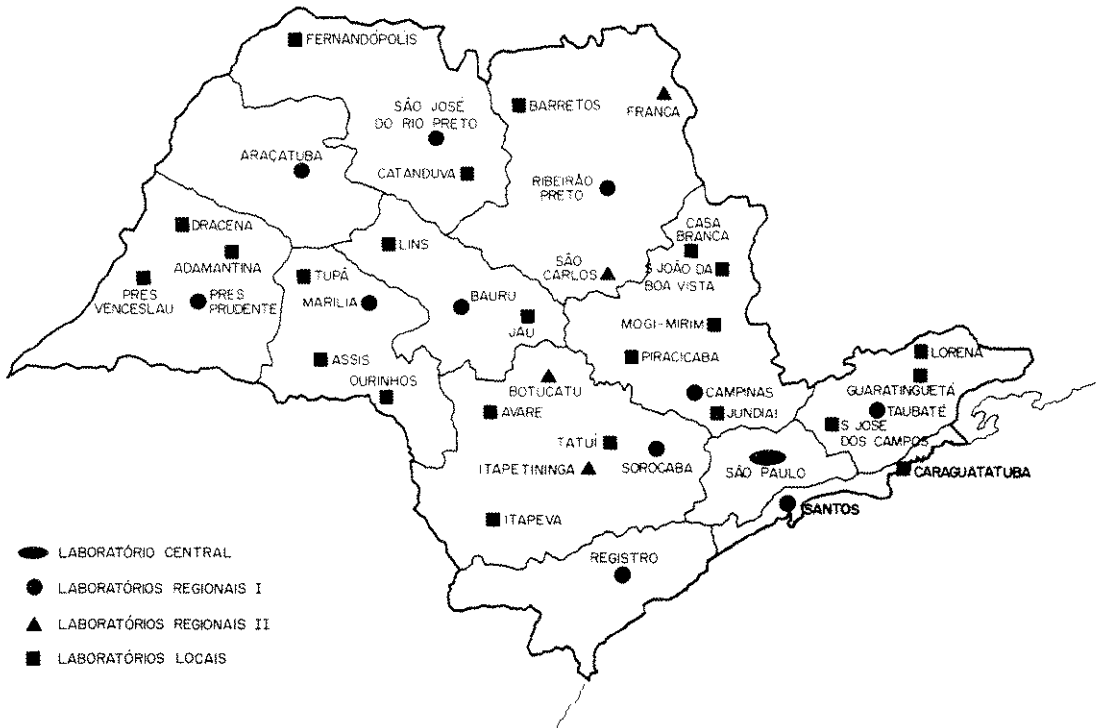


FIGURA 1 — Rede de laboratórios do Instituto Adolfo Lutz localizados no interior do Estado de São Paulo (1984).

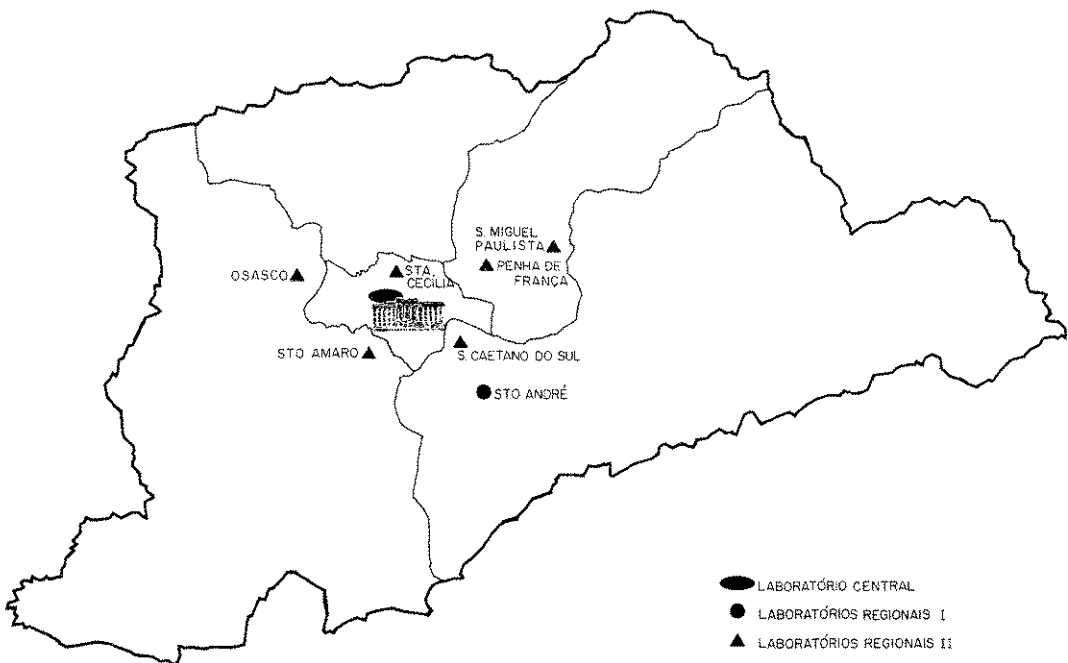


FIGURA 2 — Rede de laboratórios do Instituto Adolfo Lutz localizados na área metropolitana de São Paulo (1984).

TABELA 1

Quadro do pessoal da Divisão de Laboratórios Regionais do IAL, por categoria profissional, nos anos de 1976, 1980 e 1984

Categoria Profissional	1976 *	1980 *	1984 **	Diferença percentual 1976/1984
Nível Universitário ***	70	105	112	60,0%
Técnico de Laboratório	101	217	262	159,4%
Auxiliar de Laboratório	65	148	170	161,5%
Escriturário	94	122	111	17,5%
Servente	97	143	132	36,0%
Atendente	31	27	16	— 48,4%
Outras Categorias	39	44	29	— 25,6%
Total	497	806	832	67,4%

* Fonte: "Boletins de Frequência" referentes aos 3.º trimestres de 1976 e 1980.

** Fonte: "Avaliação de Desempenho" referente ao mês de julho de 1984.

*** Inclusive Diretores, Chefes e Encarregados.

TABELA 2

Exames realizados pela rede de Laboratórios Regionais do IAL, segundo a área de atividade, no período 1976-1984

Área de atividade	1976		1978		1980		1982		1984		Diferença percentual entre 1976/1984
	N.º Amostras	% Total	N.º Amostras	% Total	N.º Amostras	% Total	N.º Amostras	% Total	N.º Amostras	% Total	
Bacteriologia	38.997	4,6	95.332	8,1	135.251	9,9	174.149	10,9	181.070	8,8	364,3%
Sorologia	98.051	11,8	148.073	12,5	199.615	14,6	239.916	15,0	287.569	14,0	193,3%
Parasitologia	407.342	49,1	478.510	40,7	545.261	39,8	531.253	33,4	649.324	31,4	59,4%
Hematologia	165.443	19,1	270.378	23,0	282.273	20,6	371.811	23,3	397.038	19,2	140,0%
An. Clínicas	113.261	13,6	174.901	14,9	199.932	14,5	282.735	17,0	540.847	26,2	377,5%
Bromatologia	5.419	0,6	8.133	0,7	7.569	0,5	6.971	0,4	8.673	0,4	60,0%
Total	828.443	100,0	1.175.327	100,0	1.369.901	100,0	1.595.833	100,0	2.064.521	100,0	149,20%

Fonte: Relatórios da Divisão de Laboratórios Regionais.

WALDMAN, E.A. & MIRANDA, J.B.N. — Experiências da rede de laboratórios do Instituto Adolfo Lutz em época recente (período 1976-1984). Subsídios para a elaboração de novas diretrizes para o Sistema Estadual de Laboratórios de Saúde Pública. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46 (1/2): 27-43, 1986.

TABELA 3

Exames bacteriológicos realizados pela rede de Laboratórios Regionais do IAL, distribuídos conforme a programação a que foram destinados, período de 1978 a 1982

Ano	Programa de Controle da Tuberculose		Programa de Controle da Hanseníase		Coproculturas		Total *	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
1978	58.052	60,9	14.464	15,2	6.238	6,5	95.332	100,0
1979	65.711	57,6	18.995	16,7	7.530	6,6	113.970	100,0
1980	81.105	60,0	18.769	13,9	5.812	11,3	135.251	100,0
1981	110.067	68,6	21.220	12,2	6.331	3,9	160.512	100,0
1982	110.313	63,1	24.625	14,1	4.965	2,8	174.871	100,0
1983	107.192	60,1	26.838	15,0	4.326	2,4	178.455	100,0
1984	108.720	60,0	27.489	15,2	4.197	2,3	181.070	100,0

* A diferença entre a soma das parcelas e o total se refere a exames bacteriológicos para outras finalidades.

Fonte: Relatórios anuais da Divisão de Laboratórios Regionais.

TABELA 4

Exames sorológicos realizados pela rede de Laboratórios Regionais do IAL, distribuídos conforme a programação a que foram destinados, período de 1978 a 1984

Ano	Saúde Materna		Banco de Sangue		Avulsos		Total	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
1978	19.829	13,4	35.782	24,1	92.462	62,5	148.073	100,0
1979	34.814	13,3	61.405	23,4	165.624	63,3	261.843	100,0
1980	47.548	23,8	84.866	42,5	67.201	33,6	199.615	100,0
1981	62.399	26,5	77.423	32,8	95.826	40,7	235.648	100,0
1982	83.244	34,7	78.181	32,5	78.491	32,7	239.916	100,0
1983	95.372	38,2	78.305	31,3	76.220	30,5	249.867	100,0
1984	108.443	37,7	90.816	31,6	88.310	30,7	287.569	100,0

Fonte: Relatórios anuais da Divisão de Laboratórios Regionais.

TABELA 5

Gestantes atendidas pelo programa de Saúde Materna na rede de Laboratórios Regionais do IAL, período de 1978 a 1984

Ano	N.º aproximado de gestantes	Total de Exames realizados
1978	20.000	94.357
1979	35.000	127.698
1980	47.500	138.428
1981	60.000	174.083
1982	74.500	228.422
1983	95.000	285.000
1984	110.000	330.000

Fonte: Relatórios anuais da Divisão de Laboratórios Regionais.

TABELA 6

Baciloscopias destinadas ao diagnóstico e controle de tratamento da tuberculose, realizadas pela rede de Laboratórios Regionais do IAL, período de 1976 a 1984

Ano	Total de baciloscopias realizadas *	Baciloscopias para diagnóstico			Baciloscopias para controle de tratamento
		N.º	Positivas		
			n.º	%	
1976	18.890
1977	25.446
1978	56.229	25.700	2.025	7,8	19.333
1979	62.852	35.777	2.875	8,0	24.529
1980	74.391	46.178	2.875	6,2	25.960
1981	103.082	62.607	3.580	8,9 **	37.400
1982	107.289	67.487	4.011	9,9 **	35.657
1983	107.192	72.718	3.963	8,7 **	32.024
1984	108.720	75.347	4.125	9,2 **	30.252

* A diferença entre o total de baciloscopias realizadas e a soma das baciloscopias para diagnóstico e controle de tratamento referem-se àquelas sem esta informação.

** Percentagem de 1.ª baciloscopias positivas ou de casos diagnosticados em "sintomáticos respiratórios".

Fonte: Relatórios anuais da Divisão de Laboratórios Regionais.

WALDMAN, E.A. & MIRANDA, J.B.N. — Experiências da rede de laboratórios do Instituto Adolfo Lutz em época recente (período 1976-1984). Subsídios para a elaboração de novas diretrizes para o Sistema Estadual de Laboratórios de Saúde Pública. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 46(1/2):27-43, 1986.

TABELA 7

Baciloscopias destinadas ao diagnóstico e controle de tratamento de hanseníase, realizadas pela rede de Laboratórios Regionais do IAL, período de 1976 a 1984

Ano	Total de baciloscopias realizadas *	Baciloscopias para diagnóstico			Baciloscopias para controle de tratamento
		N.º	Positivas		
			n.º	%	
1976	1.210
1977	2.274
1978	14.464	2.419	422	19,7	8.169
1979	18.859	3.988	719	18,0	12.947
1980	18.769	3.802	730	19,0	13.904
1981	21.200	4.647	936	20,1	15.704
1982	24.625	5.070	1.063	21,0	18.465
1983	26.838	5.711	1.174	20,5	20.148
1984	27.489	5.693	1.024	18,0	20.484

* A diferença entre o total de baciloscopias realizadas e a soma das baciloscopias, para diagnóstico e controle de tratamento, referem-se àquelas sem esta informação.

Fonte: Relatórios anuais da Divisão de Laboratórios Regionais.

TABELA 8

*Exames sorológicos destinados ao controle laboratorial de Bancos de Sangue, realizados pela rede de Laboratórios Regionais do IAL, período de 1978 a 1984 **

Ano	Sorologia para Lues		Sorologia para Doença de Chagas		Pesquisa de AG. Hbs		Total de exames
	N.º	Positivos (%)	N.º	Positivos (%)	N.º	Positivos (%)	
1978	12.122	4,1	12.069	2,7	11.496	0,4	36.135
1979	20.671	2,6	20.618	3,4	20.156	0,7	61.405
1980	28.062	3,0	28.056	2,5	28.748	0,7	84.866
1981	26.345	3,5	25.634	3,6	25.394	0,9	77.423
1982	26.533	3,7	24.860	1,6	26.788	0,7	78.181
1983	26.795	3,7	25.156	1,7	26.354	1,1	80.033
1984	31.724	3,9	29.486	1,7	29.632	1,5	93.016

* Laboratório de Taubaté, Sorocaba, Campinas, Ribeirão Preto, Bauru, São José do Rio Preto, Araçatuba, Presidente Prudente, Marília, Itapetininga.

Fonte: Relatórios anuais da Divisão de Laboratórios Regionais do IAL.

TABELA 9

Proporção de Centros de Saúde, por Divisão Regional de Saúde que se utilizaram da rede de Laboratórios Regionais do IAL, nos 3.ºs trimestres dos anos de 1976, 1978, 1980, 1982 e 1984

Divisão Regional de Saúde	1976	1978	1980	1982	1984
	%	%	%	%	%
1	5,0	73,8	93,5	100,0	97,02
2	71,4	71,4	71,4	100,0	100,0
3	54,3	60,0	88,6	94,3	97,67
4	52,4	91,8	100,0	91,8	93,75
5	51,2	80,9	89,3	88,1	97,64
6	78,3	78,3	92,8	96,4	97,64
7	70,7	60,9	92,7	90,2	100,0
8	(...)*	51,6	91,4	98,9	97,80
9	48,6	97,2	100,0	100,0	100,0
10	57,6	100,0	100,0	93,0	100,0
11	34,7	97,9	100,0	100,0	100,0
do Vale da Ribeira	(...)*	60,0	90,0	87,5	38,23
Total	35,7	76,7	93,7	95,0	97,55

* Dados não disponíveis.

Fonte: "Boletim trimestral de procedência de amostra" da Divisão de Laboratórios Regionais do IAL.

WALDMAN, E.A. & MIRANDA, J.B.N. — Experiências da rede de laboratórios do Instituto Adolfo Lutz em época recente (período 1976-1984). Subsídios para a elaboração de novas diretrizes para o Sistema Estadual de Laboratórios de Saúde Pública. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 46(1/2):27-43, 1986.

TABELA 10

Proporção de Centros de Saúde, por Divisão Regional de Saúde, que enviaram amostras de escarro, para diagnóstico e controle de tratamento da tuberculose, à rede de Laboratórios Regionais do IAL, nos 3.ºs trimestres dos anos de 1976, 1978, 1980, 1982 e 1984

Divisão Regional de Saúde	1976	1978	1980	1982	1984
	%	%	%	%	%
1	1,6	21,6	36,0	50,2	52,41
2	0,0	71,4	71,4	92,9	100,0
3	11,8	28,	76,5	91,4	83,72
4	29,5 *	39,5	90,0	85,2	84,37
5	3,6	41,6	60,7	70,2	88,23
6	19,0	75,9	79,0	73,8	80,0
7	0,0	31,7	73,7	70,7	72,09
8	(...) **	29,0	62,6	73,6	79,12
9	40,5	64,8	64,9	86,5	92,10
10	41,0	69,4	72,6	76,0	89,65
11	0,0	81,6	93,7	92,0	90,19
De vale	(...) **	60,0	75,0	75,0	70,58
Total	10,5	44,1	63,8	78,1	74,12

* Informação subestimada pela inexistência de informações referentes aos Distritos Sanitários de Sorocaba e Tatui.

** Dados não disponíveis.

Fonte: "Boletim trimestral de procedência de amostras" da Divisão de Laboratórios Regionais do IAL.

WALDMAN, E.A. & MIRANDA, J.B.N. — Experiências da rede de laboratórios do Instituto Adolfo Lutz em época recente (período 1976-1984). Subsídios para a elaboração de novas diretrizes para o Sistema Estadual de Laboratórios de Saúde Pública. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 46 (1/2): 27-43, 1986.

TABELA 11

Proporção de Centros de Saúde, por Divisão Regional de Saúde, que enviaram amostras para o diagnóstico e controle de tratamento de hanseníase, à rede de Laboratórios Regionais do IAL, durante os 3.ºs trimestres dos anos de 1976, 1978, 1980, 1982 e 1984

Divisão Regional de Saúde	1976	1978	1980	1982	1984
	%	%	%	%	%
1	0,5	6,5	8,1	12,7	25,65
2	0,0	57,1	57,1	78,6	100,00
3	5,9	14,7	41,2	60,0	60,46
4	3,2 *	4,9	31,7	34,9	43,75
5	0,0	32,1	51,2	59,5	69,41
6	5,9	38,5	46,5	58,3	61,17
7	0,0	17,0	44,7	36,6	34,88
8	(...) **	6,4	27,4	41,7	46,15
9	0,0	0,0	16,2	51,4	42,10
10	13,1	22,0	30,6	54,0	53,44
11	0,0	10,2	35,4	56,0	54,90
De vale	(...) **	0,0	18,7	37,0	35,29
Total	2,1	15,3	29,0	48,3	44,98

* Informação subestimada pela inexistência de dados referentes aos D.S. de Sorocaba e Tatui.

** Dados não disponíveis.

Fonte: "Boletim trimestral de procedência de amostras" da Divisão de Laboratórios Regionais do IAL.

WALDMAN, E.A. & MIRANDA, J.B.N. — Experiências da rede de laboratórios do Instituto Adolfo Lutz em época recente (período 1976-1984). Subsídios para a elaboração de novas diretrizes para o Sistema Estadual de Laboratórios de Saúde Pública. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 46 (1/2): 27-43, 1986.

TABELA 12

Número de proporção de exames realizados pelos Laboratórios Regionais da rede do IAL, conforme sua categoria, nos anos de 1976, 1978, 1980, 1982 e 1984

Laboratórios por categoria	1976		1978		1980		1982		1984	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
Laboratório I	589.714	71,2	759.407	64,6	872.558	63,7	1.011.199	63,4	1.050.000	50,9
Laboratório II	230.729	28,8	274.987	23,4	237.914	17,4	292.677	18,3	409.721	19,8
Laboratórios da Região da Grande São Paulo	—	—	107.606	9,1	172.351	12,6	291.957	18,3	405.116	19,6
Laboratórios Locais	—	—	33.374	2,8	87.078	6,4	120.723	7,6	199.684	9,7

Fonte: Relatórios anuais da Divisão de Laboratórios Regionais.

WALDMAN, E.A. & MIRANDA, J.B.N. — Experiências da rede de laboratórios do Instituto Adolfo Lutz em época recente (período 1976-1984). Subsídios para a elaboração de novas diretrizes para o Sistema Estadual de Laboratórios de Saúde Pública. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46 (1/2): 27-43, 1986.

Outro dado, que nos facilita a caracterização dos serviços prestados pela rede de laboratórios de Saúde Pública do Estado, está na proporção de exames destinados ao atendimento dos programas da Secretaria em relação ao total efetuado que se situou, nos últimos anos, ao redor de 45,0%.

Quanto a produção dos laboratórios regionais divididos em grupos, considerando os graus de complexidade das unidades, verificaremos (tabela 12) que os laboratórios I apresentaram durante o período 1976 a 1984 uma participação decrescente, abrangendo 71,2% da produção da Divisão de Laboratórios Regionais em 1976, e somente 50,9% no final do período, enquanto os Laboratórios II da região metropolitana e os laboratórios locais do Interior apresentaram um aumento significativo, atingindo em 1984 a proporção de 29,3% dos exames efetuados pela rede de laboratórios regionais do IAL. Esta última informação é relevante, uma vez que demonstra a consolidação das novas unidades da Divisão de Laboratórios Regionais, assim como sua agilidade e capacidade para responder com uma prestação de serviço regular a um aumento constante e acentuado da demanda de exames solicitados.

Em alguns setores, porém, os resultados alcançados pelos laboratórios regionais não foram tão auspiciosos, um foi o da Vigilância Sanitária, em função, principalmente, da inexistência nesta Secretaria de uma programação para o setor e o outro, o da Vigilância Epidemiológica que, apesar de ter apresentado acentuado aprimoramento na última década, não conseguiu alcançar uma estrutura e coordenação ágil, o que obviamente repercutiu no seu suporte laboratorial. Vale ainda salientar a necessidade de implementar a efetuação de treinamento para aprimorar o sistema de colheita, acondicionamento e transporte de amostras e o retorno dos resultados que, se nos últimos anos mostrou sensível melhora, ainda exige óbices a serem transpostos.

As informações e comentários apresentados, referentes à atuação da rede de laboratórios de Saúde Pública do Estado de São Paulo, no período de 1977 a 1984, apesar de não permitirem a identificação de problemas particulares de suas diversas unidades, refletem as modificações do perfil de seu comportamento, em face dos programas desenvolvidos, nos últimos anos, pela Secretaria da Saúde. Tais resultados, considerados os entraves freqüentemente existentes na administração pública, podem ser aceitos como bons, demonstrando o acerto, ao menos nos seus pontos principais, das diretrizes políticas seguidas pela rede de laboratórios de Saúde Pública do Estado de São Paulo no período em questão e salientando a agilidade da instituição na resposta à necessidade gerada por novas programações.

Este ciclo de ampliação e de modificações da rede de laboratórios de Saúde do Estado encerra-se, em nosso entender, com a publicação do Decreto n.º 22.339, de 7-6-84, que dá nova estrutura à Divisão de Laboratórios Regionais¹⁷, tornando de direito todas as alterações realizadas durante o período 1977-1984.

Merece registro o fato de a implementação da rede de laboratórios de Saúde Pública no Estado de São Paulo nos últimos anos e, mais especificamente, na segunda metade da década de 1970 não constituir fato isolado, mas, guardadas as devidas proporções, fenômeno observado em praticamente todas as unidades da federação, que deve ser considerado como decorrência das mudanças ocorridas tanto nas conceituações teóricas como nas práticas desenvolvidas pelo setor saúde nesse período e que refletiram no espírito de textos legais como as Leis que estabelecem o Sistema Nacional de Saúde (1975) e o Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica (1975), as Portarias ministeriais que estabelecem o Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública e a que dá competência à Divisão Nacional de Laboratórios de Saúde Pública para desenvolver a rede nacional de Laboratórios de Saúde Pública, com o objetivo de apoiar os programas do Ministério da Saúde e, em particular, a Vigilância Epidemiológica^{2, 3, 4}.

No período de 1976-1979 foram criadas em todo o País 515 novas unidades laboratoriais de diversos níveis de complexidade². Vale salientar que o Instituto Adolfo Lutz participou dessa programação na qualidade de Laboratório Nacional de Saúde Pública e que a Divisão de Laboratórios Regionais do IAL contribuiu com o treinamento de 224 técnicos de nível médio. Estas considerações mostraram-se incompletas, caso omitissem uma referência a dois antigos diretores de laboratórios regionais do IAL, os Drs. Paulo de Almeida Machado e Celso Soares Haberbeck Brandão, que nessa época ocuparam, respectivamente, os cargos de Ministro da Saúde e de Diretor da Divisão Nacional de Laboratórios de Saúde Pública. Devemos, também, por justiça, salientar os papéis desempenhados pelos Drs. prof. Walter S. Pereira Leser, Octavio de Azevedo Mercadante e Augusto de E. Taunay que, respectivamente, como Secretário da Saúde do Estado de São Paulo, Coordenador da Coordenadoria de Serviços Técnicos Especializados e Diretor do Instituto Adolfo Lutz, emprestaram significativo apoio ao desenvolvimento da rede de Laboratórios de Saúde Pública do Estado de São Paulo durante o período aqui considerado.

Colocados os aspectos, a nosso ver, mais relevantes da história dos laboratórios regionais do IAL e após uma avaliação sucinta do desempenho dessas unidades em seu passado recente, cabe uma discussão de seus problemas atuais e perspectivas futuras.

A proposta de implementação da rede oficial de assistência médica primária, com a extensão da cobertura desses serviços a amplos segmentos de sua população, trouxe em seu bojo sérios desafios à rede de laboratórios do IAL, uma vez que implica maior abrangência das atribuições até aqui assumidas pela instituição.

A participação do IAL como suporte laboratorial da assistência médica primária tem constituído tema de discussão da equipe técnica da Divisão de Laboratórios Regionais, desde o fim da década de 1970¹², porém sem ainda apresentar contornos nítidos, uma vez que os demais setores da Secretaria da Saúde não possuíam, até recentemente, posições consensuais a respeito do assunto.

Nos últimos anos e, mais especialmente, a partir de 1983, os projetos de participação do Estado na assistência médica primária tornaram-se mais precisos, mas esbarraram na Administração Pública Estadual, tradicionalmente lenta, que por distorções sucessivas apresenta setores extremamente hipertrofiados em sua estrutura e atribuições e excessiva centralização dos seus níveis de decisão.

Coincidentemente, porém, o próprio processo de democratização do País abriu novas perspectivas de solução para problemas que atingem nossa população, inclusive aqueles da área social, como o da assistência médica. Sem dúvida, das propostas ultimamente apresentadas, a da descentralização das decisões político-administrativas, por meio do fortalecimento do município, é a que se apresenta mais atraente, ainda que implique lento processo de modificações e adaptações que passam obrigatoriamente por reformas constitucionais e, no caso, mais especificamente, pela alteração da legislação tributária, permitindo ao município o acesso a parcelas mais significativas dos tributos sobre a produção e a renda nacionais.

O aspecto apresentado, resumidamente, no último parágrafo, é fundamental para o encaminhamento objetivo da discussão relativa à viabilização técnico-administrativa da assistência médica primária e de seu suporte laboratorial. Para que este último se faça de forma adequada, sem reprimir a demanda, será necessária profunda modificação da política até aqui observada para a Rede Estadual de Laboratórios da Saúde Pública, de modo a permitir, nessa área, um aprimoramento da assistência médica à população.

A rede do IAL deverá executar em 1985 pouco menos de três milhões de exames, constituindo não só a rede de Laboratórios de Saúde Pública com a maior produção no País, como também a única adequadamente instalada, e utilizando, sem capacidade ociosa, seus recursos humanos e de equipamentos. No entanto, estima-se em torno de 20 milhões de exames anuais a demanda a ser gerada pelo adequado atendimento da população de nosso

Estado pela rede básica de assistência médica. Ora, se mantivermos a atual política de centralização dos laboratórios nos municípios-sede de Departamentos Regionais de Saúde e de Distritos Sanitários, será obrigatória a quase completa automatização do equipamento dessas Unidades, para possibilitar um aumento de 8 a 10 vezes em sua produção, em espaço de tempo de, aproximadamente, 2 a 3 anos.

Essa alternativa enfrenta, em nosso País, sérios óbices pois implica elevados investimentos em equipamentos, em sua grande maioria importados, além da aquisição, quase obrigatória, de kits de reagentes para a execução de exames. Afora o custo elevado desse tipo de equipamento acrescentam-se, ainda, sérias dificuldades para sua manutenção, inclusive pela falta de peças sobressalentes no mercado brasileiro. Tais problemas tornam esta solução extremamente arriscada, podendo acarretar pesados prejuízos ao erário público e à população, uma vez que esta possivelmente não usufruiria os benefícios em sua plenitude.

Outra opção a ser considerada seria uma nova ampliação da rede de laboratórios do IAL, possibilitando, a médio prazo, a existência de uma unidade em praticamente todos os municípios do Estado. Essa diretriz de excessiva descentralização da rede de laboratórios de saúde pública já foi colocada em prática em vários Estados da Federação, com péssimos resultados, tanto pela falta de estrutura administrativa que garantisse a regularidade do fornecimento de insumos e a manutenção de equipamentos e prédios, como também pelas dificuldades técnicas, quase insuperáveis, de garantir a observação dos métodos padronizados por meio de treinamentos e supervições regulares e de estabelecer sistema adequado de controle de qualidade. Ainda com relação a esta última proposta, vários sanitaristas defendem o desmembramento dos laboratórios regionais do IAL, subordinando-os administrativamente aos Departamentos Regionais de Saúde, criando-se então sistemas regionais de laboratórios que teriam no atual laboratório I o seu nível mais alto de complexidade. Seus defensores, ainda que apresentem argumentos coerentes, como o da necessidade de unificação do sistema de assistência médica abrangendo centros de saúde, hospitais gerais e laboratórios sob uma única linha de mando, deixam de observar que tal proposta, aparentemente inovadora, reproduz, a nível regional, com pequenas modificações, a atual estrutura centralizadora da Secretaria da Saúde. Cumpre salientar que esta solução, uma vez adotada, encareceria sobremaneira o suporte laboratorial, uma vez que obrigaria a aumento significativo da complexidade dos laboratórios I, situando-a bem próxima daquela apresentada pelo Laboratório Central do IAL, que, como se sabe, necessita de amplos recursos para sua manutenção, consumindo nada

menos do que 60,0% dos recursos da Rede Estadual de Laboratórios.

Finalmente, passaremos a expor a alternativa que nos parece, por um lado, a mais coerente com a proposta de descentralização das decisões político-administrativas, permitindo a efetiva participação do município no gerenciamento dos serviços de saúde voltados à assistência médica primária e, por outro, a opção mais viável, tomando como parâmetro para raciocínio a atual estrutura da administração pública do Estado de São Paulo e sua política de recursos humanos, especialmente nos aspectos relativos à falta de agilidade na admissão de pessoal tanto para a ampliação de seus quadros como também para a reposição de funcionários, ao perfil de sua equipe de profissionais, e à escala salarial observada.

Com base no exposto, recomendados à Secretaria de Estado da Saúde a manutenção de uma única rede de laboratórios de saúde pública subordinada técnica e administrativamente ao Instituto Adolfo Lutz e formada pelo seu Laboratório Central e pelos Laboratórios Regionais I. Esta rede teria como principal atribuição oferecer suporte laboratorial aos sistemas de vigilância epidemiológica e sanitária das regiões administrativas que compõem o Estado de São Paulo, e aos sistemas de assistência médica primária, localizados nos municípios-sede de região administrativa e, eventualmente, de alguns outros mais próximos. A rede estadual de laboratórios de saúde pública constituiria, ainda, órgão de referência, responsável pela elaboração de normas técnicas, treinamento de pessoal, supervisão e consultoria a serem oferecidos aos demais laboratórios oficiais — estaduais e municipais — existentes nas diferentes regiões administrativas do Estado.

O suporte laboratorial da assistência médica primária nos municípios que não constituem sede de região administrativa seria oferecido por laboratórios municipais, que não funcionariam dentro de uma rede de laboratórios, mas, como unidades municipais autônomas. Esta característica torna a proposta muito mais viável, uma vez que diminui significativamente seu custo, possibilitando, ainda, uma agilidade administrativa maior, permitindo, inclusive, maior facilidade de compatibilização da complexidade técnica desse laboratório com aquela oferecida pelos serviços de assistência médica do município.

Esta proposta, caso seja aceita, deverá ser implantada de forma gradual, uma vez que a criação desses laboratórios municipais enfrenta algumas dificuldades importantes, como o alto custo dos equipamentos, a necessidade de treinar profissionais de nível universitário nas técnicas rotineiramente utilizadas nesse

tipo de unidade e também no seu gerenciamento. Portanto, numa primeira fase esses novos laboratórios ficariam subordinados técnica e administrativamente ao Instituto Adolfo Lutz, ficando ainda sob sua responsabilidade a compra e manutenção dos equipamentos necessários e o fornecimento de material de consumo; o município, em contrapartida, ofereceria o pessoal e as instalações adequadas ao seu bom funcionamento. A efetiva municipalização dessas unidades se daria a curto ou médio prazo, respeitando as peculiaridades regionais e de comum acordo entre Estado e Município.

Os laboratórios regionais II e os locais já existentes e pertencentes à rede do Instituto Adolfo Lutz terão sua situação definitiva igualmente estabelecida conforme as características peculiares a cada região e também de comum acordo entre Estado e Município.

Esta proposta, se analisada sob o aspecto político, permite o fortalecimento do poder municipal, incentivando, de certa forma, a organização da população em associações de usuários de serviços públicos, que passariam a pressionar os poderes municipais no sentido do aprimoramento da assistência médica e, no caso particular, do seu suporte laboratorial. O fácil acesso da população aos níveis de decisão político-administrativa do município constitui, talvez, o argumento mais consistente desta proposta.

Sob o ângulo administrativo, esta alternativa impede que a rede do IAL aumente de forma excessiva o número de suas unidades, tornando-se, à semelhança de outros órgãos da administração direta da própria Secretaria da Saúde, inviável pelo seu gigantismo associado a uma estrutura administrativa de apoio inadequada e que não apresenta condições de mudança a curto ou médio prazo.

Em seu aspecto técnico pode-se criticar essa solução por não garantir a padronização dos métodos utilizados pelo laboratório municipal. No entanto, podemos contra-argumentar que essa padronização, ainda que aconselhável, não é fundamental quando se trata do suporte laboratorial para a assistência médica primária.

Apresentados, em seus contornos gerais, os principais problemas enfrentados, nos dias atuais, pela rede de laboratórios do IAL, assim como algumas de suas possíveis soluções, consideramos recomendável uma análise cuidadosa da história e das experiências dessa instituição para que se possam, com maior segurança e clareza, estabelecer as diretrizes que nortearão a política da rede de laboratórios de saúde pública do Estado de São Paulo nos próximos anos.

WALDMAN, E.A. & MIRANDA, J.B.N. — Experiences with the Instituto Adolfo Lutz network of laboratories in recent time (1976 to 1984): subsidies for the planning of new guidelines for the State of São Paulo System of Public Health Laboratories. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):27-43, 1986.

ABSTRACT: After a brief historical note, the evaluation of the work of Instituto Adolfo Lutz (IAL) network of regional laboratories during the period 1976 to 1984 is made. The policies followed during this period included decentralization of specimen collection (which was left to local health centers), the centralization of laboratory examinations at the capital of each sanitary district and the better integration of public health laboratories to other institutions of the Public Health System, particularly to those institutions responsible for the planning of programs and subprograms of health care and for sanitary and epidemiological surveillances. To improve the basic medical care in the State of São Paulo, the need of redefining the policies for the state network of public health laboratories is stressed. As a subsidy to this polemic issue, the thesis of progressive municipalization of laboratories supporting basic medical care is supported. The IAL would remain with the technical and administrative responsibility and its larger regional laboratories would support sanitary and epidemiological surveillances and would become the technical reference for the municipal laboratories.

DESCRIPTORS: Public Health laboratories; Health planning.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Leis, decretos etc. — Lei n.º 6.229, de 17 de julho de 1975. In: BRASIL. Ministério da Saúde — *Legislação federal do setor Saúde*. 2.ª ed. Brasília, Consultoria Jurídica, 1977. v. 1, p. 149-53. Dispõe sobre a organização do Sistema Nacional de Saúde.
2. BRASIL. Leis, decretos etc. — Lei n.º 6.259, de 30 de outubro de 1975. In: BRASIL. Ministério da Saúde — *Legislação federal do setor Saúde*. 2.ª ed. Brasília, Consultoria Jurídica, 1977. v. 1, p. 153. Dispõe sobre a organização das ações de Vigilância Epidemiológica, sobre o programa Nacional de Imunizações, estabelece normas relativas à notificação compulsória de doenças, e dá outras providências.
3. BRASIL. Leis, decretos etc. — Portaria n.º 280/Bsb, de 21 de julho de 1977. *Diário Oficial*, Brasília, 29 jul. 1977. p. 9741. Institui o Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública.
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Ações Básicas da Saúde. Divisão Nacional de Laboratórios de Saúde Pública — *Rede de Laboratórios de Saúde Pública: estrutura básica*. Brasília, DNLS/ SNABS/MS, 1980. 43 p.
5. CALAZANS, S. — Laboratórios de Saúde Pública; sua criação e desenvolvimento em São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 16:85-135, 1956.
6. LEMOS, F.C. — Contribuição à história do Instituto Bacteriológico, 1892-1940. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 14 (n.º esp.):1-161, 1954.
7. MACHADO, M.A. & ABREU, L.G.S. — A ocorrência de furcocercárias em planorbídeos capturados no município de Campinas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 15:235-40, 1955.
8. MASCARENHAS, R.S. — *Contribuição para o estudo da administração sanitária em São Paulo*. São Paulo, 1949. 565 p. [Tese Livre-doc. — Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo].
9. MOURA, S.A.L. — Contribuição do Laboratório Regional de Santos na epidemiologia da esquistossomose *mansoni* em Santos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 12:97-109, 1952.
10. MOURA, S.A.L. — Schistosomose *mansoni* autóctone em Santos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 5:279-311, 1945.
11. PIZA, J.T. — Esboço histórico da esquistossomose em São Paulo; Relato de alguns fatos de importância referentes ao seu combate. In: ENCONTRO SOBRE ESQUISTOSSOMOSE, 2.º, São Paulo, 1982. *Situação da esquistossomose no Estado de São Paulo: relatório*. São Paulo, SUCEN, 1982. Anexo 4, p. 4.
12. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — Relatórios anuais da Divisão de Laboratórios Regionais no período de 1952 a 1984 s.n.t. [Datilogr.]

WALDMAN, E.A. & MIRANDA, J.B.N. — Experiências da rede de laboratórios do Instituto Adolfo Lutz em época recente (período 1976-1984). Subsídios para a elaboração de novas diretrizes para o Sistema Estadual de Laboratórios de Saúde Pública. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):27-43, 1986.

13. SÃO PAULO. Leis, decretos etc. — Decreto n.º 22.339, de 7 de junho de 1984. *Diário Oficial*, São Paulo, 8 jun. 1984. p. 8. Dispõe sobre a reorganização da Divisão de Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz da Coordenadoria dos Serviços Técnicos Especializados e dá outras providências.
14. SÃO PAULO. Leis, decretos etc. — Decreto n.º 27.666, de 8 de março de 1957. *Diário Oficial*, São Paulo, 9 mar. 1957. p. 6. Determina que os serviços do Instituto Adolfo Lutz sejam prestados pelo Laboratório Central e Laboratórios Regionais, e dá outras providências.
15. SÃO PAULO. Leis, decretos etc. — Decreto n.º 52.182, de 16 de julho de 1969. *Diário Oficial*, São Paulo, 17 jul. 1969. p. 1. Dispõe sobre a organização da Secretaria de Estado da Saúde e dá outras providências.
16. SÃO PAULO. Leis, decretos etc. — Decreto-lei n.º 13.789, de 31 de dezembro de 1943. *Diário Oficial*, São Paulo, p. . Dispõe sobre a transferência da Seção de Bromatologia do Serviço de Policiamento da Alimentação Pública do Interior para o Instituto Adolfo Lutz.
17. SÃO PAULO. Leis, decretos etc. — Resolução SS 15, de 19 de fevereiro de 1979. *Diário Oficial*, São Paulo, 20 fev. 1979. p. 25. Dispõe sobre a subordinação de laboratórios localizados em unidades sanitárias da Coordenadoria de Saúde da Comunidade.
18. WALDMAN, E.A. — Diretrizes de uma política para a rede de laboratórios de Saúde Pública do Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41:15-21, 1981.

Recebido para publicação em 23 de janeiro de 1986.

TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS PARA A DIFERENCIAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS CÍTRICOS DE LIMÃO SICILIANO E TAHITI *

Helena Yuco YABIKU **
Walkyria H. LARA **

RIALA6/608

YABIKU, H.Y. & LARA, W.H. — Técnicas cromatográficas para a diferenciação de óleos essenciais cítricos de limão siciliano e Tahiti. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):45-51, 1986.

RESUMO: Para verificação das diferenças qualitativas e quantitativas dos óleos essenciais de limão dos tipos Siciliano e Tahiti, foram estudadas duas técnicas cromatográficas: a da camada delgada e a gasosa. A técnica da cromatografia em camada delgada baseou-se na utilização de placas de vidro de 20 x 20 cm, recobertas com sílica gel G; a fase móvel utilizada foi benzeno — acetato de etila — ácido acético glacial, na proporção de 90:10:1. A detecção foi feita de duas maneiras: uma, através da visualização na câmara de luz ultravioleta, outra através de pulverização com reagente químico. A técnica de cromatografia em fase gasosa utilizou o detector de ionização de chama, com fase estacionária de 5% SP-1000 em Supelcoport, para mostrar as diferenças existentes entre estes dois óleos. Verificou-se que, tanto na técnica da cromatografia em camada delgada quanto na cromatografia em fase gasosa, houve diferenças de comportamento destes dois óleos que permitem facilmente identificá-los. Na cromatografia em camada delgada houve diferença no número de manchas e, também, na intensidade de algumas. Na cromatografia em fase gasosa foram identificados picos e áreas diferentes dos componentes dos óleos essenciais.

DESCRITORES: óleos essenciais de limão siciliano (*Citrus limon* Burm) e de limão Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka), análise; cromatografia em camada delgada; cromatografia em fase gasosa.

INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de frutos cítricos, sendo que quase toda a totalidade é exportada. Segundo a Carteira de Comércio Exterior do Banco do Brasil, em 1984, o suco de laranja, sozinho, arrecadou US\$ 1,225 bilhão¹.

Das cascas destes frutos cítricos obtêm-se os correspondentes óleos essenciais. São três os processos de extração: pela destilação a vapor, por expressão a frio e por abrasão da superfície da casca². No Brasil, o processo de extração por expressão a frio, conhecido como *cold pressed*, é o comumente utilizado.

Os óleos essenciais vêm tendo crescente uso como fontes de isolados e derivados aromá-

ticos. Leis recentes, no tocante às indústrias alimentícias, vêm incentivando o uso de substâncias naturais, como é o caso de óleos essenciais e corantes naturais. Seu uso é regulamentado, em nosso País, pelo Decreto-lei n.º 55.871, de 26 de março de 1965¹.

Graças às suas fragrâncias delicadas, persistentes e agradáveis, os óleos essenciais encontram grande aplicação nas indústrias de perfumaria e alimentos. Sendo estes óleos obtidos de produtos naturais, eles são misturas bastante complexas, constituídas principalmente de hidrocarbonetos monoterpênicos, derivados terpenóides oxigenados e sesquiterpênicos. Em aromas, é muito importante reconhecer que, mesmo quando um componente do aroma está presente em grande concentração, não é ele necessariamente o responsável pelo aroma e/ou odor do produto.

* Realizado na Seção de Aditivos e Resíduos de Pesticidas do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.
** Do Instituto Adolfo Lutz.

Este componente pode ser inodoro ou mesmo um realçador de odor⁵. Este fato ocorre com os óleos cítricos, onde os terpenóides oxigenados, que são constituintes menores, contribuem com maior intensidade no aroma e odor destes óleos².

Visando mostrar diferenças na composição entre os óleos essenciais de limão das variedades siciliano (*Citrus limon* Burm) e Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka), independentemente de pequenas variações qualitativas e quantitativas que ocorrem quando os frutos são cultivados em diferentes condições, tais como clima, irrigação, natureza do solo, foram utilizadas duas técnicas cromatográficas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 18 amostras de óleo essencial de limão siciliano e 9 amostras de limão Tahiti, procedentes de diversas regiões do Estado de São Paulo, colhidas em diferentes épocas.

Método de cromatografia em camada delgada

Material

Aparelho para preparação de placas para cromatografia em camada delgada (c.c.d.)

Placas de vidro de 20 x 20 cm para c.c.d.

Cuba de vidro para c.c.d.

Câmara de luz ultravioleta (254 e 366 nm)

Microseringas

Reagentes

Sílica gel G (tipo 60)

Solvente (fase móvel): benzeno — acetato de etila — ácido acético glacial (90:10:1)

Revelador: ácido sulfúrico (1:1)

Procedimento — Agitar vigorosamente sílica gel com água, na proporção de 10 g para 20 ml, e aplicar esta solução nas placas de vidro, na espessura de 250 μ m. Secar ao ar em torno de 10 minutos e, depois, deixar durante 30 minutos em estufa a 105 °C. Retirar da estufa, resfriar e aplicar na placa alíquotas de 5 μ l das amostras de óleos essenciais de limão siciliano e Tahiti. Correr com o solvente até atingir aproximadamente 14 cm de altura da placa. Retirar da cuba e secar à temperatura ambiente na capela. Observar a placa inicialmente na câmara de luz ultravioleta, nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm, e depois pulverizar com o revelador. Ativar a 105 °C na estufa, por aproximadamente 10 minutos.

Método de cromatografia em fase gasosa

Equipamento

Cromatógrafo a gás (Varian 3700), com detetor de ionização de chama e coluna de vidro de 3,5 m por 1/4 de pol. (empacotada com 5% de polietileno glicol (SP-1000), em Supelcoport, 80 — 100 mesh, nas seguintes condições de operação:

Temperatura do detetor: 280 °C

Temperatura do injetor: 270 °C

Temperatura da coluna: inicialmente a 89 °C, por 5 min e, depois, a uma razão de 4 °C por min, até 250 °C

Gás de arraste: nitrogênio

Fluxo de gás: 88 ml/min

Volume injetado: 1 μ l

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que, tanto na técnica de cromatografia em camada delgada quanto na de cromatografia em fase gasosa, houve diferenças de comportamento dos dois óleos, que permitem facilmente identificá-los.

Na cromatografia em camada delgada há diferenças no número de manchas e também na intensidade de algumas, conforme a figura 1. Nesta figura observam-se as amostras de dois óleos desenvolvidos no solvente (fase móvel), sendo a detecção apenas pela visualização na câmara de luz ultravioleta. Foram detectadas 16 e 18 manchas respectivamente nos óleos de limão siciliano e Tahiti, cujos valores de R_f são vistos na tabela 1. As diferenças mais visíveis foram observadas da metade para baixo nas placas correspondentes provavelmente aos derivados oxigenados. As manchas mais distintas são as fluorescentes, com valores de R_f 0,52, 0,47 e 0,40. As outras manchas são praticamente iguais, variando apenas suas intensidades.

As placas, uma vez observadas na luz ultravioleta, foram pulverizadas com reagente químico e posteriormente ativadas (fig. 2). As diferenças entre os dois óleos também são bastante visíveis, indicando que as duas técnicas de revelação foram bastante úteis.

A constituição química genérica dos óleos essenciais de frutos cítricos compreende hidrocarbonetos monoterpênicos, monoterpênicos oxigenados (álcoois, ésteres, aldeídos, cetonas) e hidrocarbonetos sesquiterpênicos, que podem ser visualizados nos cromatogramas obtidos dos óleos essenciais de limão siciliano e Tahiti, respectivamente representados nas figuras 3 e 4.

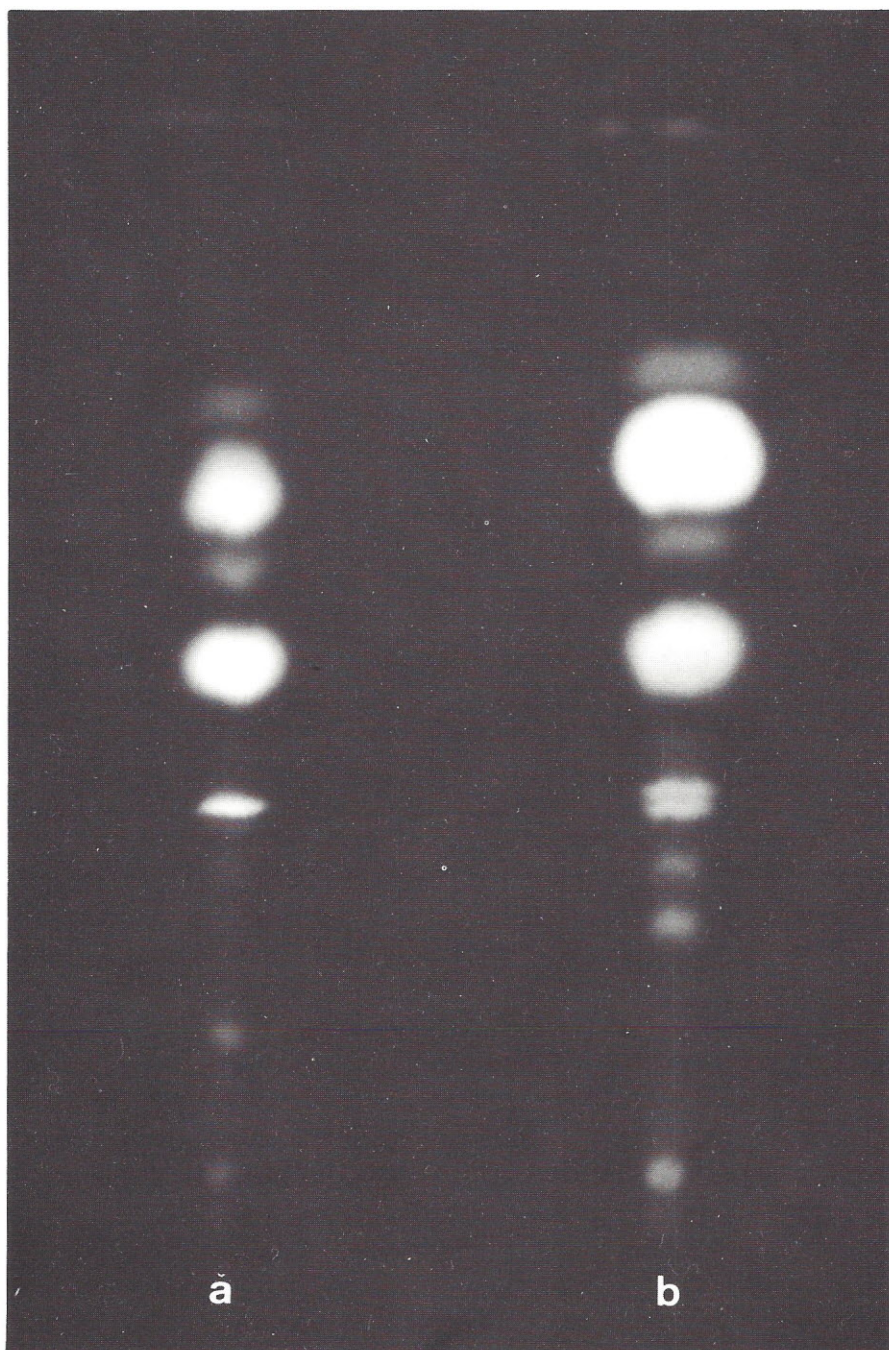


FIGURA 1 — Cromatogramas dos óleos essenciais de limão siciliano (a) e Tahiti (b), sob visualização na câmara de luz ultravioleta.

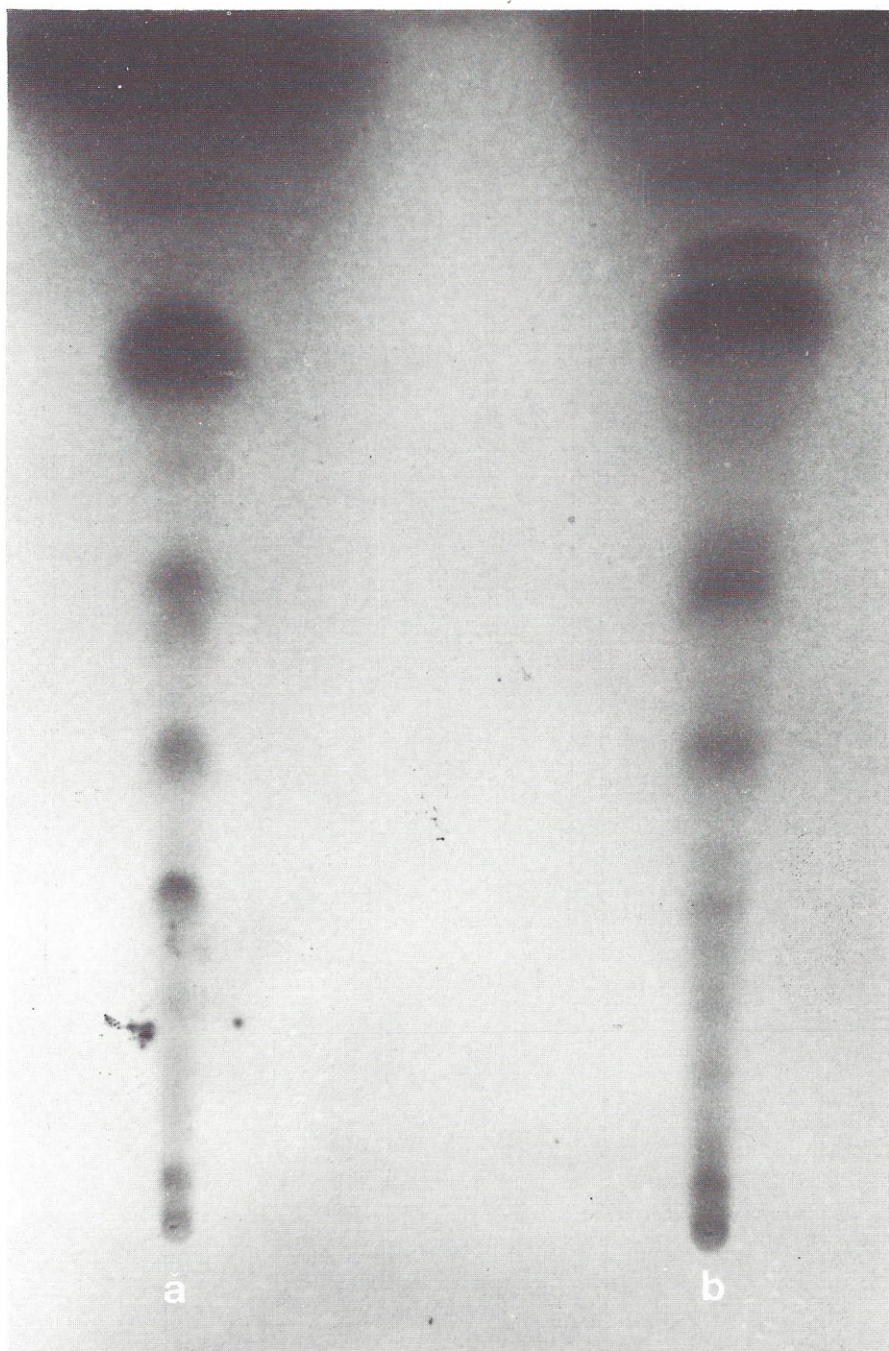


FIGURA 2 — Cromatogramas dos óleos essenciais de limão siciliano (a) e Tahiti (b), após pulverização com revelador.

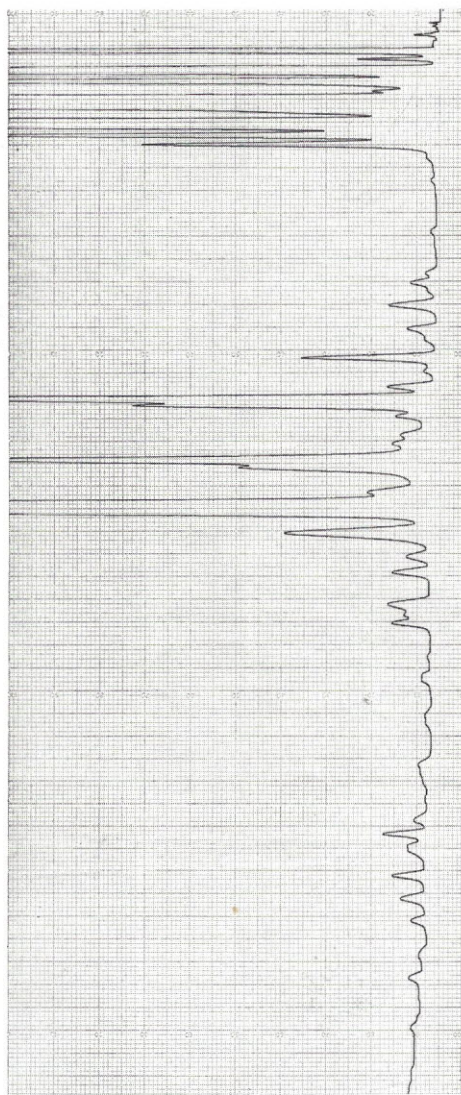


FIGURA 3 — Perfil cromatográfico do óleo essencial de limão Tahiti.

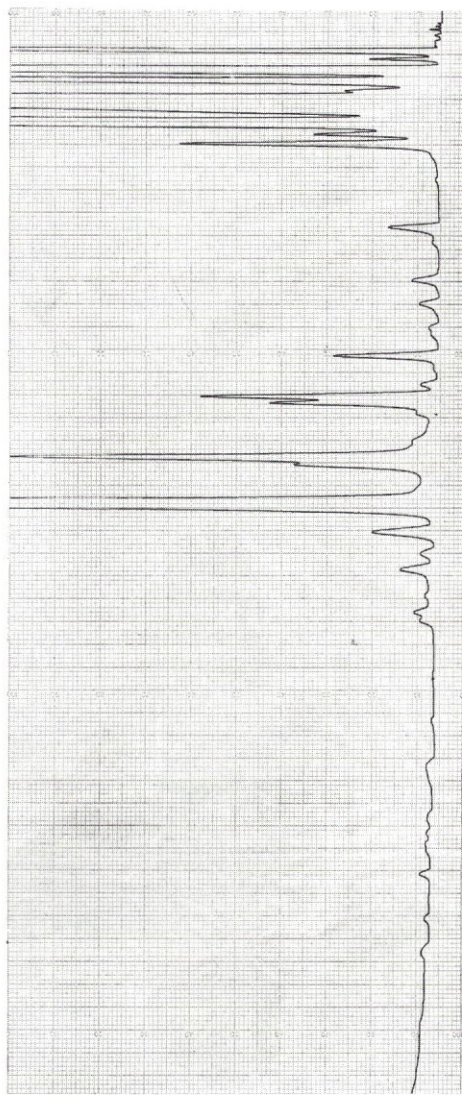


FIGURA 4 — Perfil cromatográfico do óleo essencial de limão siciliano.

TABELA

Valores de Rf das manchas dos óleos essenciais de limão siciliano e Tahiti

Manchas n.º	Valores de Rf x 100	
	Limão siciliano	Limão Tahiti
1	0	0
2	6	7
3	19	13
4	26	22
5	33	28
6	39	31
7	43	35
8	49	40
9	52	47
10	59	52
11	65	54
12	68	57
13	72	59
14	80	66
15	89	74
16	100	81
17	—	90
18	—	100

Os primeiros picos dos cromatogramas dos óleos essenciais de limão siciliano e Tahiti, obtidos nas condições acima citadas, diferem entre si apenas nas áreas e não nos picos dos diferentes componentes dos óleos. Portanto, bastante compatíveis com os resultados obtidos com as placas. As diferenças residem basicamente nos picos correspondentes aos derivados oxigenados e aos hidrocarbonetos sesquiterpênicos.

CONCLUSÃO

As duas técnicas utilizadas, cromatografia em camada delgada e cromatografia em fase gasosa, são bastante viáveis e úteis na iden-

tificação de óleos de limão siciliano e Tahiti. Estas técnicas possuem grande vantagem em relação às determinações físico-químicas, que são os parâmetros normalmente utilizados, pois necessitam apenas de pequenas quantidades de amostra, em torno de 1 a 5 μ l, além de serem mais rápidas.

Agradecimentos

A Ruth Ogawa, da firma Firmenich & Cia. Ltda., São Paulo, pelos cromatogramas traçados no cromatógrafo gasoso, e a Sérgio Viana, do Instituto Biológico de São Paulo, pela execução dos filmes.

RIALA6/608

YABIKU, H.Y. & LARA, W.H. — Chromatographic techniques for differentiation of essential oils of Sicilian lemon and Tahiti lemon. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):45-51, 1986.

ABSTRACT: Thin-layer chromatography and gas liquid chromatography were employed for qualitative and quantitative differentiation of essential oils from Tahiti and Sicilian types of lemon. TLC employed 20 x 20 cm glass plates which were coated with benzene — ethyl acetate — glacial acetic acid in the proportion 90:10:1. Detection was made through visual examination in an ultraviolet light chamber as well as through a chemical spray. GC used the flame ionization with stationary phase of 5% SP-1000 in Supelcoport for disclosing differences between the two oils. The behaviour of the oils allowed their easy differentiation. The TLC showed differences in the number of spots as well as in the intensity of some spots. GC identified peaks and different areas corresponding to components of the two essential oils.

DESCRIPTORS: essencial oils; Sicilian lemon (*Citrus limon* Burm) essential oils, analysis; Tahiti lemon (*Citrus latifolia* Tanaka) essential oil, analysis; thin-layer chromatography; gas-liquid chromatography.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Leis, decretos etc. — Decreto n.º 55.871, de 26 de março de 1965. *Diário Oficial*, Brasília, 9 abr. 1965. Seção I, pt. I, p. 3610-22. Modifica o Decreto n.º 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto n.º 691, de 13 de março de 1962.
2. BURCHFIELD, H.P. & STORRS, E.E. — *Biochemical applications of gas chromatography*. New York, Academic press, 1962. p. 371-82.
3. GUENTHER, E. — *The essential oils*. New York, Van Nostrand, 1949. v. 3, p. 5-38.
4. NOGUEIRA, C.R. — Suco de laranja vai para os Estados Unidos. *Folha de S. Paulo*, São Paulo, 17 jan. 1985. p. 13.
5. SWAN, D.F.K. — Analysis of essential oils by capillary gas chromatography. *Analyst*, London, 110(4): I-II, 1984.

Recebido para publicação em 23 de janeiro de 1986.

ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE MATERNO E DO COLOSTRO DE MÃES BRASILEIRAS *

Maria Elisa Wohlers de ALMEIDA **
Franca DURANTE ***
Elza Schwarz Gastaldo BADOLATO ***
Andrea de Brito CAPARROZ ***

RIALA6/609

ALMEIDA, M.E.W.; DURANTE, F.; BADOLATO, E.S.G. & CAPARROZ, A.B. —
Ácidos graxos do leite materno e do colostro de mães brasileiras. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):53-58, 1986.

RESUMO: A cromatografia em fase gasosa foi aplicada para a identificação e determinação de ácidos graxos contidos na gordura do leite humano. Foi analisado um total de 113 amostras, sendo 68 de colostro (do 2.^o ao 5.^o dia de secreção) e 45 de leite materno, variando do 6.^o dia ao 6.^o mês de lactação. Nos dois tipos de amostra foram identificados os mesmos ácidos graxos: cáprico, láurico, mirfístico, miristoléico, palmítico, palmitoléico, C₁₈ iso, esteárico, oléico, linoléico, linolênico e gadoléico. Foram ainda detectados ácidos graxos com número ímpar de átomos de carbono, C₁₅ e C₁₇ (ácido margárico), como também dois picos não-identificados, correspondentes a ácidos graxos. De acordo com os resultados obtidos, o colostro apresentou maior percentagem de ácidos graxos insaturados enquanto que o leite materno apresentou maior quantidade de saturados. Quanto aos ácidos graxos essenciais, linoléico e linolênico, o colostro possuía maior percentagem média (19%) do que o leite materno (15%). O colostro possuía menor quantidade de gordura (em média menos de 1%) que o leite materno (em média 3%). Estes resultados estão de acordo com os dados publicados na literatura consultada, com exceção do ácido graxo essencial linoléico.

DESCRITORES: leite materno, determinação de ácidos graxos; ácidos graxos em leite materno, determinação; cromatografia em fase gasosa.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o aleitamento materno tem sido intensamente estimulado pelas recomendações da Organização Mundial da Saúde e por campanhas realizadas por Ministérios de Saúde, em diversos países. Este fato teve também, como consequência, um grande aumento na pesquisa dos vários componentes do leite materno.

Alguns autores como ANDERSON et alii¹ e BITMAN et alii² enfocaram as diferenças entre a composição dos ácidos graxos do leite

de mães que deram à luz prematuramente e a composição do leite daquelas que tiveram filhos em tempo normal. Outros, como VUORI et alii¹⁶ e SOLIMAN et alii¹³, verificaram a influência da alimentação da lactante na composição do leite materno. SANDERS et alii¹², por exemplo, fizeram um estudo do leite materno de mulheres inglesas vegetarianas e não-vegetarianas, concluindo ter, o primeiro, composição diferente daquele de mães não-vegetarianas, principalmente em relação ao ácido graxo linoléico, devido ao fato de estar este ácido presente em grande quantidade nos vegetais.

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

** Da Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

*** Do Instituto Adolfo Lutz.

BRACCO & BAUER⁴, JENSEN et alii¹⁰ e HAMBRAEUS⁸ fizeram um estudo completo do leite humano, os dois primeiros enfocando apenas os lipídios e o último tratando de todos os componentes.

Alguns autores, como GIBSON & KNEBONE⁷, HARZER et alii⁹, RODKIEWICZ et alii¹¹ e STERNOWSKY & VON SCHUTZ¹⁴, verificaram as mudanças ocorridas na composição dos ácidos graxos do leite materno durante o tempo de lactação.

A importância dos ácidos graxos na alimentação de lactentes tem sido ressaltada por vários autores, principalmente devido à presença, na gordura do leite, de ácidos graxos insaturados essenciais. Os ácidos graxos linoléico (C 18:2) e linoléico (C 18:3) desempenham um papel importante pela sua metabolização em ácidos graxos polinsaturados de cadeia mais longa. Estes metabólitos são fundamentais para a biossíntese de prostaglandinas (VAN DORP et alii¹⁵).

O objetivo do presente estudo foi investigar a composição em ácidos graxos do colostro e do leite materno de mães brasileiras, suas diferenças, como também as variações ocorridas durante o período de lactação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi analisado um total de 113 amostras, sendo 68 de colostro, do 2.^o ao 5.^o dia de secreção, e 45 de leite materno, variando do 6.^o dia ao 6.^o mês de lactação.

As amostras analisadas foram obtidas no Banco de Leite do Hospital do Servidor Público do Estado de São Paulo, no Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo e através de doações particulares.

Os lipídios das amostras foram extraídos da seguinte maneira: em um funil de separação foram misturadas partes iguais de leite, álcool metílico e clorofórmio. A mistura foi centrifugada durante 10 minutos a 2.000 rpm. A camada inferior de clorofórmio contendo os lipídios foi separada e o solvente foi evaporado em banho-maria.

Os lipídios foram então submetidos a um processo de transesterificação, de acordo com BADOLATO & ALMEIDA².

Os ésteres metílicos assim obtidos foram analisados por cromatografia em fase gasosa, utilizando-se um cromatógrafo marca Varian, modelo 1400, equipado com detector de ionização de chama.

Foi usada uma coluna de aço inoxidável de 6 pés de comprimento e 1/8 de polegada de diâmetro interno, tendo como fase estacionária DEGS (succinato de dietileno glicol) a

20% e Chromosorb W/AW 80-100 mesh como suporte sólido, numa temperatura programada de 70 a 190 °C.

As áreas dos picos foram medidas com integrador eletrônico marca Varian, modelo CDS-111, sendo que a percentagem relativa de cada componente foi determinada pelo processo de normalização interna.

Os principais ácidos graxos foram identificados por comparação com o tempo de retenção de padrões.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as amostras analisadas, tanto do colostro como do leite materno, foram identificados os mesmos ácidos graxos: cáprico, láurico, mirístico, miristoléico, palmítico, palmitoléico, C₁₈ iso, esteárico, oléico, linoléico, linolênico e gadoléico.

Foram, ainda, detectados dois ácidos graxos com número ímpar de átomos de carbono, C₁₅ e C₁₇ (ácido margárico), como também dois outros picos de ácidos graxos não-identificados (fig. 1 e 2).

A composição dos ácidos graxos da gordura do colostro e do leite materno está reunida em tabela (página 5).

As principais diferenças observadas entre o colostro e o leite materno foram:

- maior quantidade de ácidos graxos saturados de cadeia média (C₁₀, C₁₂ e C₁₄) contidos no leite materno;
- o ácido graxo presente em maior quantidade, tanto no colostro como no leite, era o ácido oléico, sendo que no colostro ele foi encontrado, em média, em percentagem um pouco maior que no leite;
- tanto o colostro como o leite materno possuíam maior percentagem de ácidos graxos insaturados que saturados, sendo que a quantidade de ácidos graxos insaturados diminuía com o tempo de lactação, enquanto que a quantidade de saturados aumentava;
- a percentagem de gordura foi menor no colostro (em média menos de 1%) que no leite materno (em média 3%);
- o colostro apresentava maior porcentagem média (19%) de ácidos graxos essenciais, linoléico e linolênico, do que o leite materno (15%).

Verificamos que, agrupando os dados por nós obtidos não por tempo de lactação mas por número de filhos, não houve nenhuma diferença significativa na composição dos ácidos graxos, podendo-se concluir que a composição em ácidos graxos do leite materno independe do número de lactações, pelo menos quando se comparam mães diferentes.

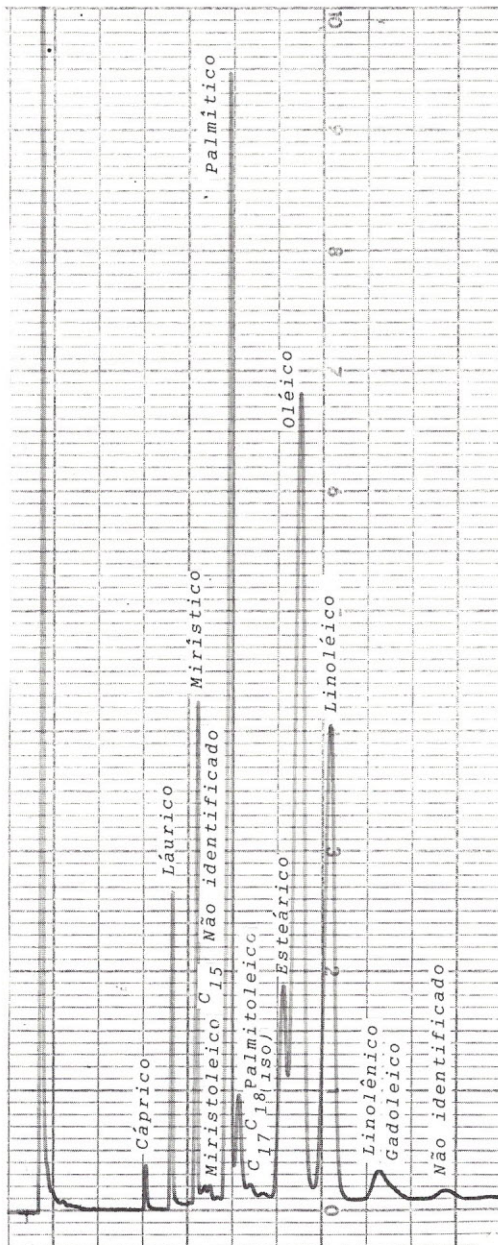


FIGURA 1 — Cromatograma de ácidos graxos de colostro.

Apesar de a maioria dos autores por nós consultados afirmar que a composição dos ácidos graxos do leite humano varia de acordo com a dieta alimentar da mãe, não pudemos fazer tal verificação, por desconhe-

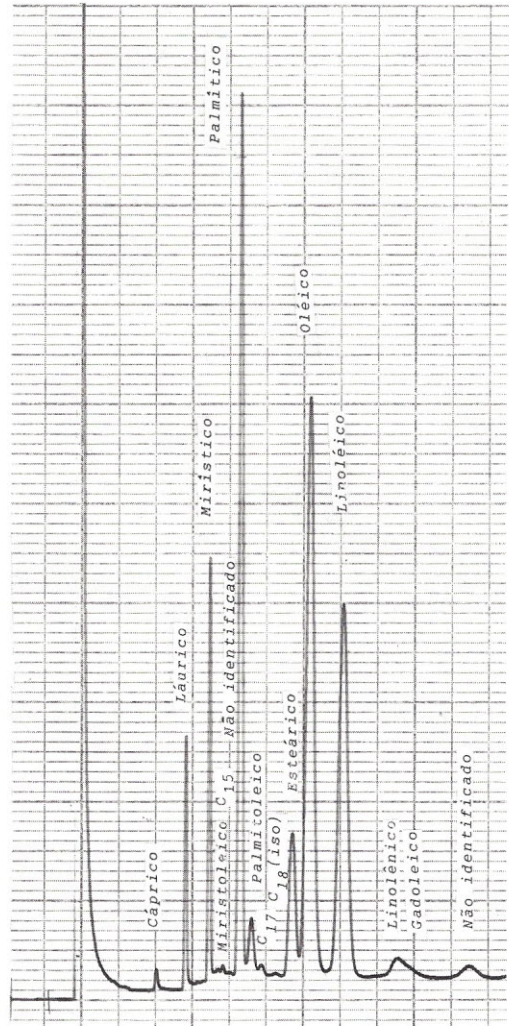


FIGURA 2 — Cromatograma de ácidos graxos de leite materno.

cermos o tipo de alimentação das mães cujo leite analisamos.

Comparando-se o leite materno com o leite de vaca, que foi nosso objeto de estudo em

TABELA

Composição dos ácidos graxos da gordura do colostro e do leite materno

Ácido graxo	Colostro (68 amostras)			Leite materno (45 amostras)		
	Valor %			Valor %		
	Mínimo	Máximo	Médio	Mínimo	Máximo	Médio
Cáprico	tr *	1,6	0,3	tr	2,3	0,8
Láurico	0,7	7,4	2,8	1,6	14,9	5,3
Mirístico	3,4	11,4	5,7	3,7	14,8	7,2
Miristoléico	tr	2,3	1,0	tr	1,8	0,7
C ₁₅	tr	1,8	0,9	tr	1,6	0,7
Não identificado	tr	1,5	0,5	tr	1,5	0,4
Palmitico	17,7	34,9	22,6	15,4	39,1	22,7
Palmitoléico	2,2	7,9	3,7	2,1	5,1	3,3
C ₁₇	tr	3,1	1,0	tr	2,7	0,9
C ₁₈ (iso)	tr	2,9	0,5	tr	3,0	0,5
Esteárico	4,2	10,2	6,5	3,4	13,9	8,0
Oléico	27,5	43,8	34,5	22,5	43,1	32,9
Linoléico	1,7	25,2	17,0	0,1	28,8	14,0
Linolênico/Gadoleico	tr	3,6	2,1	tr	3,2	1,5
Não identificado	tr	2,5	1,0	tr	4,7	0,8

* tr = traços.

um trabalho anterior, verificamos as seguintes principais diferenças, em relação aos ácidos graxos:

- o leite de vaca possui ácidos graxos de cadeia curta (butírico, capríco e caprílico) que estão ausentes no leite materno;
- os ácidos graxos essenciais (linoléico e linolênico), cuja importância já foi anteriormente citada, representaram cerca de 2% do total de ácidos graxos do leite de vaca e 15% do de leite materno.

CONCLUSÃO

Os resultados por nós obtidos estão de acordo com os dados publicados na literatura

consultada, com exceção do ácido graxo essencial linoléico; o leite de mulheres brasileiras apresenta uma percentagem maior deste ácido graxo, comparado com o leite das mulheres da maioria dos outros países. Considerando que a alimentação tem influência na composição dos ácidos graxos do leite humano, talvez o grande consumo no Brasil de óleo de soja, rico em ácido linoléico, explique essa diferença.

Salientamos, ainda, não haver sido encontrados, na literatura nacional, dados sobre a composição em ácidos graxos do leite materno e do colostro. Os dois trabalhos encontrados que tratavam da composição do leite materno de mães brasileiras (CARNEIRO, T.A. & OLIVEIRA, J.E.D.⁵ e DOREA et alii⁶) não enfocavam os ácidos graxos.

RIALA6/609

ALMEIDA, M.E.W.; DURANTE, F.; BADOLATO, E.S.G. & CAPARROZ, A.B. — Fatty acids in milk and colostrum, from Brazilian nursing women. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):53-58, 1986.

ABSTRACT: Gas-liquid chromatography was employed in the identification and determination of the fatty acids contained in human milk fat. A total of 113 samples were tested, of which 68 were of colostrum (from the 2nd to the 5th day of secretion) and 45 samples of mother's milk obtained from the 6th day to the 6th month of nursing. In both types of samples the same fatty acids were identified: capric, lauric, miristic, miristoleic, palmitic, palmitoleic, C₁₈ iso, stearic, oleic, linoleic, linolenic, and gadoleic acids. Fatty acids with odd number of carbon atoms, C₁₅ and C₁₇ (margaric acid), were also identified as well as two peaks corresponding to unidentified fatty acids. The findings included: the colostrum samples showed higher percentage of unsaturated fatty acids while the regular milk showed a greater amount of saturated acids. The essential fatty acids: linoleic and linolenic showed a higher mean (19%) content in the colostrum compared with the regular milk (15%). The colostrum contained less fat (average, less than 1%) than regular milk (average, 3%). These results agree with those of other workers except for the essential acid, linoleic acid

DESCRIPTORS: mother's milk, determination of fatty acids; fatty acids in mother's milk, determination; gas-liquid chromatography

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSON, D.M.; WILLIAMS, F.H.; MERKATZ, R.B.; SCHULMAN, P.K.; KERR, D.S. & PITTARD, W.B. — Length of gestation and nutritional composition of human milk. *Am. J. clin. Nutr.*, 37:810-14, 1983.
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. BITMAN, J.; WOOD, L.; HAMOSH, M.; HAMOSH, P. & MEHTA, N.R. — Comparison of the lipid composition of breast milk from mothers of term and preterm infants. *Am. J. clin. Nutr.*, 38:300-12, 1983.
4. BRACCO, U. & BAUER, H. — Human milk lipids and problems related to their replacement. *Ann. Nestlé*, 40:53-81, 1978.
5. CARNEIRO, T.A. & OLIVEIRA, J.E.D. — Nutritional studies in human lactation in Brazil. 1. Chemical composition of breast milk. *Environ. Child Health*, 19:384-7, 1978.
6. DOREA, J.G.; HORNER, M.R.; BEZERRA, V.L.V. & CAMPANATE, M.L. — Variation in major constituents of fore-and hindmilk of Brazilian women. *J. trop. Pediatr.*, 28:303-5, 1982.
7. GIBSON, R.A. & KNEEBONE, G.M. — Fatty acid composition of human colostrum and mature breast milk. *Am. J. clin. Nutr.*, 34:252-7, 1981.
8. HAMBRAEUS, L. — Human milk composition. *Nutr. abstr. Rev.*, 54(4):219-36, 1984.
9. HARZER, G.; HAUG, M.; DIETERICH, I. & GENTNER, P.R. — Changing patterns of human milk lipids in the course of the lactation and during the day. *Am. J. clin. Nutr.*, 37:612-21, 1983.
10. JENSEN, R.G.; HAGERTY, M.M. & McMAHON, K.E. — Lipids of human milk and infant formulas: a review. *Am. J. clin. Nutr.*, 31:990-1016, 1978.
11. RODKIEWICZ, B.; HARDELL, L.I.; PAWLIKOWSKA-ROJEWSKA, B. & TUVE-MO, T. — Fatty acid composition of human breast milk. Changes during the first week after delivery. *Ups. J. med. Sci.*, 86(3):279-89, 1981.
12. SANDERS, T.A.B.; ELLIS, F.R. & DICKERSON, J.W.T. — Studies of vegans: the fatty acid composition of plasma choline phosphoglycerides, erythrocytes, adipose tissue, and breast milk, and some indicators of susceptibility to ischemic heart disease in vegans and omnivore controls. *Am. J. clin. Nutr.*, 31:805-13, 1978.
13. SOLIMAN, M.; OSMAN, F.; ASHOUB, A. & HUSSEIN, L. — Fatty acid patterns of breast milk of Egyptian mothers from the city and the village. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 53:438-43, 1983.

14. STERNOWSKY, H.J. & VON SCHÜTZ, G. — [Composition of fatty acids in human milk. Gas-chromatographic analysis during a lactation period of 90 days.] Zusammensetzung der Fettsäuren in Muttermilch. Gas-chromatographisch Analyse während einer Laktationsperiode von 90 Tagen. *Monatsschr. Kinderheilk. D.*, 131(5):269-72, 1983, apud *Nutr. abstr. Rev.* (Ser. A), 54(4):241-2, [abstr. 1313]
15. VAN DORP, D.A.; BEERTHUIS, R.K.; NUGTEREN, D.H. & VONKEMAN, H. — The biosynthesis of prostaglandins. *Biochim. Biophys. Acta*, 90:204-7, 1964.
16. VUORI, E.; KIURU, K.; MAKINEN, S.M.; VÄYRYNEN, P.; KARA, R. & KUITUNEN, P. — Maternal diet and fatty acid pattern of breast milk. *Acta Paediatr. Scand.*, 71:959-63, 1982.

Recebido para publicação em 9 de fevereiro de 1986.

RASTREAMENTO DE ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS
ATRIBUÍVEIS A CLAMÍDIAS EM 30.000 AMOSTRAS
DE ESFREGAÇOS VAGINAIS *

Evandro Pimenta de CAMPOS **
Marina Yoshié Sakamoto MAEDA ***
Lai Wun Song SHIH ***
Genival Reynaldo PACHECO ***
Venâncio Avancini Ferreira ALVES ***

RIALA6/610

CAMPOS, E.P.; MAEDA, M.Y.S.; SHIH, L.W.S.; PACHECO, G.R. & ALVES, V.A.F. — Rastreamento de alterações morfológicas atribuíveis a Clamídias em 30.000 amostras de esfregaços vaginais. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):59-64, 1986.

RESUMO: Descrevem-se alterações morfológicas atribuíveis a Clamídias em 40 esfregaços de materiais de colo uterino num total de 30.000 exames analisados na Divisão de Patologia do Instituto Adolfo Lutz no período de junho de 1983 a junho de 1985. Nossos achados permitem concluir que esfregaços fixados em álcool-éter e corados pelo método de Papanicolaou, no esquema habitualmente utilizado para detecção de câncer ginecológico, são perfeitamente adequados para avaliação dos efeitos associados a Clamídias. As principais alterações são inclusões puntiformes e estruturas vacuolares no citoplasma de células endocervicais, com metaplasia escamosa, e nas ectocervicais intermediárias e parabasais.

DESCRIPTORIOS: doenças da vagina; doenças do colo uterino; *Chlamydia* sp.; esfregaços vaginais; muco cervical, citopatologia; condições pré-cancerosas.

INTRODUÇÃO

Desde que o método de Papanicolaou foi introduzido na rotina diagnóstica do câncer ginecológico, além das alterações citológicas (morfológicas e tintoriais) ligadas ao aparecimento do câncer, foram constatadas outras entidades ligadas a infecções diversas, destacando-se a tricomoníase, micoses, infecções por micoplasma, vírus herpes e papilomavírus, e as relativas às Clamídias.

A infecção por Clamídias é, hoje, considerada como uma das moléstias de transmissão sexual mais comum^{4, 12}. No homem, é responsável por numerosos casos de "uretrite inespecífica", não-gonocócica, epididimite, prostatite e artrites². Na mulher, as bartolinites,

cistites, uretrites e cervicites são mais facilmente diagnosticadas que no homem, conforme assinala TERHO¹⁵. As Clamídias frequentemente se instalam assintomaticamente. A parturiente contaminada pode transmitir ao recém-nascido a infecção durante o trabalho de parto, evidenciada na criança pela conjuntivite, pneumonia e gastroenterite^{4, 16}.

Alguns autores têm recentemente descrito parâmetros morfológicos que permitem a avaliação da presença de Clamídias através de alterações que estas infecções induzem no epitélio ecto e endocervical. Entretanto, como estes parâmetros não têm sido relatados pelos grandes programas de diagnóstico citológico em nosso País nem mesmo pelos principais livros-texto de citopatologia^{7, 14}, resolvemos testar a validade da aplicação destes critérios

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

** Pesquisador Científico do Instituto Adolfo Lutz (aposentado).

*** Do Instituto Adolfo Lutz.

com intenção de permitir, em futuro próximo, sua introdução na rotina dos laboratórios de Saúde Pública.

MATERIAL E MÉTODOS

O material por nós estudado foi constituído de lâminas com esfregaços do colo uterino colhidos em vários ambulatórios da Capital, Interior e Litoral do Estado de São Paulo, fixados em álcool-éter, ou prefixados em "Carbowax" e secos, quando provenientes de locais distantes.

Esses ambulatórios, em quase sua totalidade, eram de entidades beneficentes interessadas em prestar serviços de orientação às famílias de baixa renda, incluindo o de prevenção do câncer ginecológico.

As lâminas obtidas eram enviadas ao laboratório do setor de Citologia Oncótica do Instituto Adolfo Lutz, onde eram coradas pelo método de Papanicolaou, e examinadas.

Em um total de 30.000 exames, do n.º 66.400 ao 96.400, foram identificadas 40

amostras com presença de alterações sugestivas de Clamídias.

Os critérios para a identificação das Clamídias foram os morfológicos: a) grau geral de alterações inflamatórias; b) tipos celulares do infiltrado inflamatório; c) tipo de célula epitelial infectada; d) características nucleares; e) características citoplasmáticas: inclusões e vacúolos.

RESULTADOS

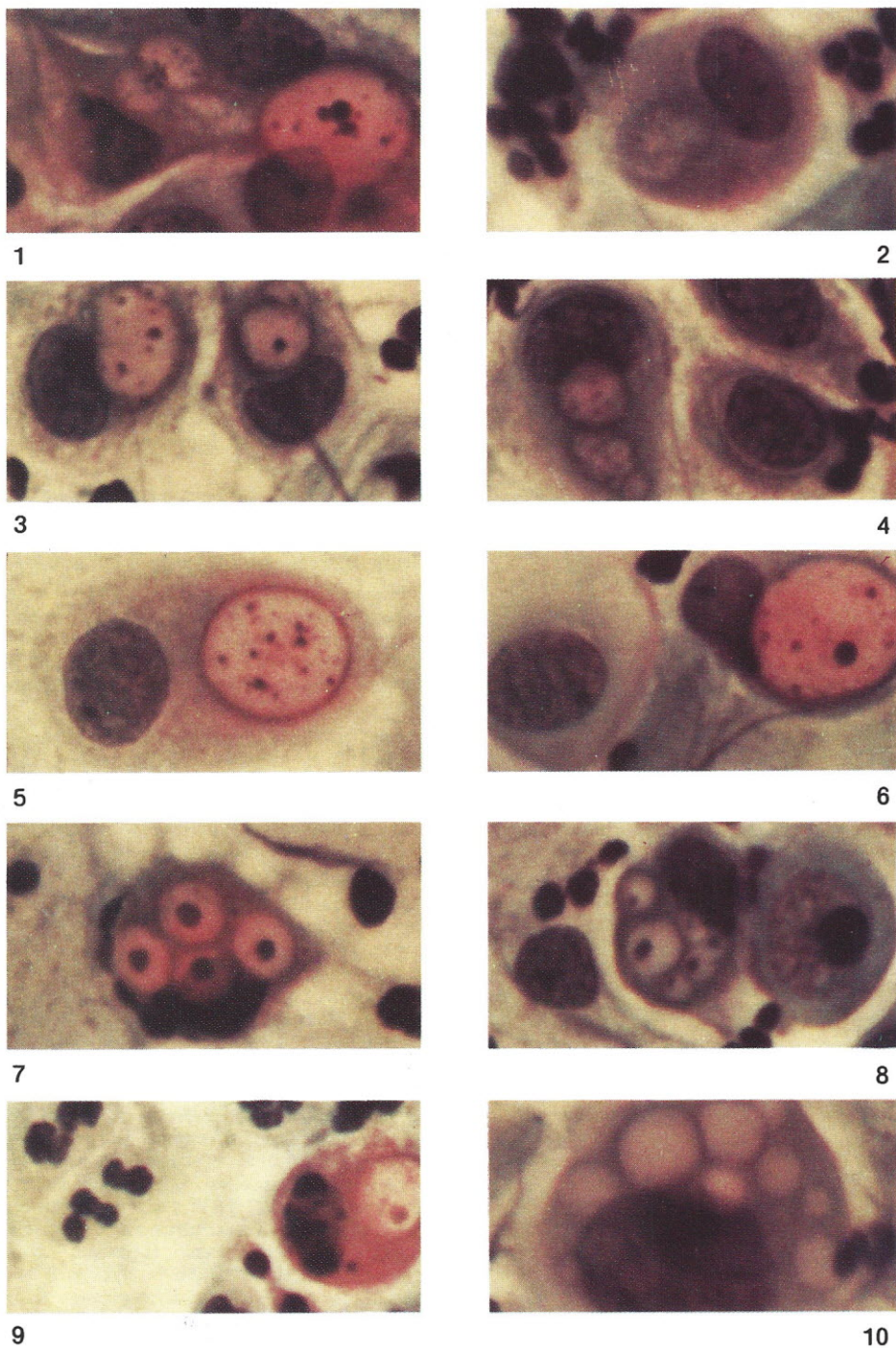
Na tabela 1, são apresentadas as características clínico-epidemiológicas das pacientes infectadas por Clamídias. As pacientes apresentavam idade desde 19 até 60 anos com média de 44 anos e mediana de 37 anos. A menarca ocorreu em média ao redor de 12 anos. O número médio de gestações foi de 6 por paciente, observando-se desde nulíparas até pacientes com 16 gestações. O início da atividade sexual variou dos 12 até os 24 anos, com média de 18 anos.

Na tabela 2, encontra-se a distribuição dos casos segundo graduação citológica proposta por Papanicolaou.

TABELA 1

Distribuição dos dados clínicos de 40 pacientes em relação à positividade para Clamídia sp.

Dados clínicos	Pacientes n.º (%)
Estado civil	
casadas	29 (72,5%)
solteiras	4 (10,0%)
viúvas	5 (12,5%)
sem informação	2 (5,0%)
Cor	
branca	31 (77,5%)
parda	3 (7,5%)
sem informação	6 (15,0%)
Menopausa	16 (40,0%)
Uso de anticoncepcional	
sim	4 (10,0%)
não	34 (85,0%)
sem informação	2 (5,0%)
Abortos	
espontâneos	15 (37,5%)
provocados	1 (2,5%)
sem informação	2 (5,0%)
Leucorréia	20 (50,0%)



FIGURAS 1 a 9 — Alterações de células parabasais e intermediárias do epitélio escamoso ectocervical e células endocervicais metaplásicas nas diferentes fases de infecção por *Chlamydia* sp.

FIGURA 10 — Alterações celulares degenerativas de células do epitélio escamoso ectocervical.

TABELA 2

Distribuição dos 40 casos positivos para Clamídias segundo graduação citológica proposta por Papanicolaou 11

Classe	Casos positivos n.º (%)
0	0 (0,0%)
I	0 (0,0%)
II	38 (95,0%)
III	1 (2,5%)
IV	0 (0,0%)
V	1 (2,5%)

O quadro citológico encontrado foi de células epiteliais parabasais e intermediárias do epitélio escamoso ectocervical e células endocervicais metaplásicas (fig. 1), apresentando um componente inflamatório em grau variável de moderado (++) a muito intenso (++++), constituído principalmente por neutrófilos, muco, bactérias e alguns histiócitos (fig. 2).

As células infectadas pelas Clamídias apresentavam um grau variável de alterações quanto ao seu tamanho, características nucleares, quantidade, volume e afinidade tintorial do citoplasma. Os vacúolos citoplasmáticos variaram desde pequenos e múltiplos a vacúolos bem delimitados com inclusões puntiformes (fig. 3, 4, 5 e 6).

Algumas células apresentavam vários vacúolos bem distintos, de tamanhos variados, sem membrana nítida, porém, com corpúsculo bem evidente e bem corado (fig. 7 e 8). Foram observadas também células parasitadas em processo degenerativo, cujo citoplasma é eosinofílico e o núcleo em cariorrex (fig. 9). Os casos de displasia e carcinoma apresentavam as alterações atribuíveis a Clamídias nas próprias células displásicas e neoplásicas (fig. 7 e 8).

DISCUSSÃO

Vários autores têm chamado a atenção para a presença da Clamídia como agente infeccioso de transmissão sexual de alta incidência 1, 3, 6, 8, 12, 15, destacando suas manifestações clínicas 2, 3 e citopatológicas 5. Nossa finalidade foi mostrar a morfologia das Clamídias e principalmente as alterações que esta infecção acarreta às células epiteliais.

Nas pacientes por nós analisadas a distribuição racial e o estado civil não foram diferentes dos da população geral que é submetida a programas de prevenção do câncer de colo uterino em nosso meio. Saliente-se, entretanto, que 40% destas pacientes eram menopausadas, em contraste com os relatos de

GUPTA 5 onde 136/160 pacientes (85%) encontravam-se em fase reprodutiva, sendo 16 (10%) gestantes.

A freqüência de acometimento no presente estudo foi muito similar à descrita em Ribeirão Preto, onde BARBIERI et alii 1 referiram índices variando de 0,03 a 0,3% 1.

Na Venezuela, BORGES et alii 3 relataram achados bastante semelhantes aos encontrados por nós em relação ao exsudato inflamatório, tipos de células parasitadas, cianofilia citoplasmática e aspectos morfológicos das inclusões.

Com vistas à precisão diagnóstica, é fundamental não confundir alterações celulares, puramente degenerativas, como vacúolos vazios de tamanhos variados e sem membrana, não-associados a inclusões citoplasmáticas, com as lesões próprias das infecções por Clamídias (fig. 10).

Na presente análise, sendo puramente citológica nossa metodologia, não pudemos chegar a uma classificação em espécies e, por esta razão, optamos pela denominação genérica *Chlamydia* sp. TERHO 15, entretanto, em uma revisão abrangente, chegou a descrever 15 imunotipos diferentes, subclassificados à imunofluorescência.

É importante reconhecer que os presentes achados não devem refletir a real freqüência de infecções por *Chlamydia* sp. em nosso meio, visto não ter sido efetuada a cultura, que é o método de escolha. Utilizando esta última técnica, PAAVONEN 10 encontrou positividade em 9% das mulheres em um ambulatório ginecológico geral em Helsinki, Finlândia, enquanto SCHACHTER 13 obteve 8% de positividade em San Francisco, EUA. Já MACD. BURNS et alii 9, em 1975, não atribuíram padrões citológicos de inflamação própria às Clamídias, mas encontraram positividade de 11,9% de culturas em Londres, Inglaterra. Quando subdividiram a população estudada, os níveis atingiram 21,6% nas pacientes com parceiros sabidamente portadores de *Chlamydia* sp. e até 43,8% das pacientes

com *Neisseria gonorrhoeae*, 13% nas que apresentavam tricomonas, 9,3% nas portadoras de candidíase. Neste estudo, dentre as mulheres sem queixa ginecológica e sem outro agente associado, 3,9% mostravam cultura positiva para Clamídias.

Em futuro próximo, pretendemos aumentar a precisão diagnóstica, submetendo novas amostras dos casos suspeitos a exames imunocitoquímicos e a culturas, com vistas a uma melhor avaliação da frequência deste problema em nosso meio.

CONCLUSÕES

O estudo de esfregaços cérvico-vaginais através do método de Papanicolaou, um exame simples e de baixo custo operacional, permite

evidenciar as características morfológicas de células epiteliais infectadas por Clamídias, que vem se transformando em importante causa de leucorréia e uretrites.

Vacúolos intracitoplasmáticos com inclusões puntiformes centrais são as evidências mais sugestivas da presença de Clamídias, especialmente em células escamosas parabasais ou intermediárias ou em células endocervicais metaplásicas.

O índice de positividade encontrado no presente estudo (0,13%) é ainda inferior ao referido na bibliografia internacional, sendo necessária, no futuro, a comparação com resultados de pesquisas imunocitoquímicas e de culturas, para a avaliação mais precisa da frequência destas infecções em mulheres brasileiras.

RIALA6/610

CAMPOS, E.P.; MAEDA, M.Y.S.; SHIH, L.W.S.; PACHECO, G.R. & ALVES, V.A.F. — Cytological alterations due to chlamydial infection in 30.000 vaginal smears. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):59-64, 1986.

ABSTRACT: Morphological alterations due to chlamydial infection were described in 40 cervical smears selected from a total of 30,000 cervical smears examined at the Pathology Division of Instituto Adolfo Lutz, in the period of July 1983 to June 1985. Our findings lead to the conclusion that smears fixed in ethanol-ether and stained by Papanicolaou method, in the usual schedule for detection of cervical cancer, were quite suitable for detection of Chlamydia-induced changes. The main alterations were inclusion bodies inside vacuolar structures in the cytoplasm of metaplastic endocervical cells and parabasal or intermediate squamous cell.

DESCRIPTORS: vaginal diseases; cervix diseases; *Chlamydia* sp.; vaginal smears; cervix mucus, citopathology; pre-cancerous conditions.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARBIERI, C.M.T.A. & VELLUDO, M.A.S.L. — Investigação citológica de *Chlamydia trachomatis* em 1.000 casos cérvico-vaginais revistos. *Rev. Med HCFMRP-USP CARL*, 16:47-52, 1983.
2. BELDA, W.; MENDES, C.M.F.; CARVALHO, R.P.S.; SIQUEIRA, L.F.G.; FRANCISCO, W. & SANTOS JÚNIOR, U.F.Q. — "Chlamydia trachomatis": estudo comparativo entre o isolamento em cultura de células e o exame direto, no diagnóstico da uretrite masculina. *Rev. paul. Med.*, 103:199-201, 1985.
3. BORGES, R.J.; CARMONA, O.; MACHADO, H. & ESPARZA, J. — Chlamydial infection in Papanicolaou-stained cervical smears. *Acta cytol.*, 28:471-6, 1984.
4. DORMAN, S.A.; DANOS, L.M.; WILSON, D.J.; NOLLER, K.L.; MALKASIAN, G.D.; GOELLNER, J.R. & SMITH, T.F. — Detection of Chlamydial cervicitis by Papanicolaou stained smears and culture. *Am. J. clin. Pathol.*, 79:421-5, 1983.
5. GUPTA, P.K.; LEE, E.F.; EROZAN, Y.S.; FROST, J.K.; GEDDES, S.T. & DONOVAN, P.A. — Cytologic investigations in *Chlamydia* infection. *Acta cytol.*, 23: 315-20, 1979.
6. HALBERSTAEDTER, L. & PROWAZEK, S. — Zur Aetiologie des Trachoms. *Deutsche Med. Wschr.*, 33:1285-7, 1907.
7. KOSS, L.G. — *Diagnostic cytology and its histopathologic basis*. 3rd ed. Philadelphia, Lippincott, 1979. v. 1, p. 223-262.

CAMPOS, E.P.; MAEDA, M.Y.S.; SHIH, L.W.S.; PACHECO, G.R. & ALVES, V.A.F. — Rastreamento de alterações morfológicas atribuíveis a Clamídias em 30.000 amostras de esfregaços vaginais *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):59-64, 1986.

8. LOEWENSTEIN, A. — Trachoma virus and the morphology of inclusion bodies. *Am. J. Ophthalmol.*, 28:282-7, 1945.
9. MACD. BURNS, D.C.; DAROUGAR, S.; THIN, R.N.; LOTHIAN, L. & NICOL, C.S. — Isolation of *Chlamydia* from women attending a clinic for sexually transmitted disease. *Brit. J. vener. Dis.*, 51:314-18, 1975.
10. PAAVONEN, J.; SAIKKU, P.; VESTERINEN, E.; VARTIAINEN, E. & SAKSELA, E. — Genital chlamydial infections in patients attending a gynaecological outpatient clinic. *Brit. J. vener. Dis.*, 54:257-61, 1978.
11. PAPANICOLAOU, G. N. — *Atlas of exfoliative cytology*. Cambridge, Mass., Harvard University Press., 1963. p. 3-34.
12. PUNNONEN, R.; TERHO, P. & KLEML, P. J. — Chlamydial pelvic inflammatory disease with ascites. *Fertil. Steril.*, 37: 270-2, 1982.
13. SCHACHTER, J.; HILL, E.C.; KING, E.B.; COLEMAN, V.R.; JONES, P. & MEYER, K.F. — Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 123:753-7, 1975.
14. TAKAHASHI, M. — *Atlas colorido de citologia do câncer*. 2.^a ed. São Paulo, Manole, 1982. p. 161-242.
15. TERHO, P. — Chlamydia trachomatis and clinical genital infections: a general review. *Infection*, 10(suppl. 1): s5-s59, 1982.
16. THYGESON, P. — The etiology of inclusion blennorrhoea. *Am. J. Ophthalmol.*, 17: 1019-35, 1934.

Recebido para publicação em 13 de fevereiro de 1986.

OCORRÊNCIA DE AFLATOXINAS, OCRATOXINA A E ZEARALENONA EM MILHO DE MINAS GERAIS. PARTE 1 *

Myrna SABINO **
Guilherme PRADO ***
Gecernir COLEN ***

RIALA6/611

SABINO, M.; PRADO, G. & COLEN, G. — Ocorrência de aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona em milho de Minas Gerais. Parte 1 — *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):65-71, 1986.

RESUMO: Em amostras de milho em grão, safra 1984, coletadas em diversas localidades do Estado de Minas Gerais, foi verificada a incidência de aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona. Foi utilizada a técnica de cromatografia em camada delgada. Das 83 amostras analisadas, 15 apresentaram aflatoxinas e apenas uma apresentou zearalenona. Não foi detectada ocratoxina A em nenhuma das amostras.

DESCRITORES: milho em grão, contaminação por micotoxinas; aflatoxina, ocratoxina A, zearalenona, detecção em milho em grão.

INTRODUÇÃO

Micotoxinas são metabólitos produzidos por fungos que infestam as culturas, no campo e durante o armazenamento, e também os produtos alimentícios destinados ao consumo humano²⁰.

As aflatoxinas pertencem a um grupo de metabólitos secundários derivados do bis-furano-isocumarina, produzidos por *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, com atividade carcinogênica, teratogênica e mutagênica¹⁰. No campo, fatores como danos por insetos e condições climáticas influenciam a produção de aflatoxina. Para formação desta toxina, durante o armazenamento dos produtos, a temperatura deve estar acima de 25 °C e o teor de umidade, superior a 16%²².

Zearalenona é um composto estrogênico que causa problemas reprodutivos em animais, principalmente em suínos²⁰, e é produzida por espécies de *Fusarium*²⁵. O hiperestrogenismo, principal sinal de infecção por *Fusa-*

rium, tem sido relatado nos Estados Unidos, Canadá, Inglaterra, URSS, Itália, Japão, África do Sul, China, Austrália, Hungria. A zearalenona é encontrada em milho, trigo, cevada, sorgo⁹. O milho é geralmente invadido por *Fusarium*, durante o armazenamento¹¹, possibilitando a produção de zearalenona, se a umidade do grão for superior a 14% e a temperatura entre 12 e 18 °C¹⁸.

Ocratoxina A é uma micotoxina produzida por várias espécies de *Aspergillus* e de *Penicillium*⁸, tendo pronunciada atividade nefrotóxica em todas as espécies de animais estudadas⁶. Os cereais são as principais fontes de ocratoxina A na dieta humana, sendo o trigo, o milho e a cevada os mais susceptíveis⁷.

No Brasil, a ocorrência de aflatoxinas é alta^{3, 4, 12, 14, 15, 16, 21}, mas se desconhece a incidência de zearalenona e ocratoxina A. O objetivo desse trabalho, na sua Parte 1, dentro da orientação do Programa Nacional de Monitoração e Controle de Micotoxinas, é o de fornecer dados sobre a presença de afla-

* Realizado na Seção de Química Biológica do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, e na Divisão de Bromatologia da Fundação "Ezequiel Dias" da Secretaria de Estado da Saúde, Belo Horizonte, Minas Gerais.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Da Fundação "Ezequiel Dias".

toxinas, ocratoxina A e zearalenona em milho.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas oitenta e três amostras de milho em grão coletadas pela Empresa Estadual de Assistência Técnica e Extensão Rural, MG (EMATER), no período de dezembro de 1984 a janeiro de 1985, em fazendas e sítios do interior de Minas Gerais, em quantidade nunca inferior a 2 kg. Após pulverização das amostras em moinho apropriado, seguiu-se tamização e quarteamento, onde estas foram reduzidas a cerca de 200 g.

A metodologia empregada para análise da zearalenona foi a da "Association of Official Analytical Chemists"²⁴, e para a aflatoxina foi utilizado o método C.B. da "A.O.A.C."²⁴.

Agitaram-se 50 g da amostra por 30 minutos com 250 ml de clorofórmio, 25 ml de água e 25 g de "Hyflo-Supercel". Em seguida, procedeu-se à filtração, recolhendo-se duas porções de 50 ml do filtrado. Para análise de zearalenona passou-se uma parte do filtrado em uma coluna de sílica gel 60, sendo a coluna eluída com hexano e benzeno para, eliminar lipídios e pigmentos, e com benzeno-acetona (95:5), para extrair a toxina. Para análise de aflatoxina, outra parte do filtrado foi também fracionada por cromatografia em coluna de sílica gel 60, usando-se hexano e éter etílico como eluentes, sendo as aflatoxinas eluídas com clorofórmio-metanol (97:3). As frações puras foram então concentradas em banho-maria, sob atmosfera de nitrogênio. O resíduo de aflatoxina foi guardado no refrigerador até o momento da sua quantificação. O resíduo contendo zearalenona foi purificado por partição com hexano e acetonitrila. A camada de acetonitrila foi evaporada e o resíduo guardado em refrigerador.

Para a determinação de aflatoxina, o resíduo foi dissolvido em 300 μ l de benzeno-acetonitrila (98:2). Em placa de sílica gel G foram aplicados 5, 10 e 10 μ l do extrato da amostra, e 1, 3, 5 e 10 μ l dos padrões de B₁ e G₁ de concentrações conhecidas. Na segunda mancha de 10 μ l da amostra, foram aplicados 5 μ l de padrões de B₁ e G₁. O cromatograma foi desenvolvido em tolueno-acetato de etila-clorofórmio-ácido fórmico a 90% (70:50:50:20), conforme recomendado por GIMENO⁵, sendo a visualização das fluorescências das aflatoxinas feita sob luz ultravioleta (366 nm) e, após comparação das intensidades das manchas fluorescentes, foi calculado o teor de aflatoxina presente na amostra analisada.

Desde que a detecção de aflatoxina por cromatografia em camada delgada não é prova conclusiva da identidade de aflatoxina, confirmação adicional foi efetuada usando o método de PRZYBYLSKY¹³, que consiste na formação dos derivados hemiacetais B_{2a} e

G_{2a} em placa de sílica gel G na presença de água e ácido trifluoroacético, usando como fase móvel clorofórmio-acetona (85:15). Esses derivados apresentam fluorescência em R_f a cerca de 0,15-0,30 sob luz ultravioleta (366 nm). Em todas as amostras foi confirmada a positividade para aflatoxina.

Para quantificação de zearalenona, o resíduo foi dissolvido em 300 μ l de benzeno. Em duas placas A e B de sílica gel 60 foram aplicados 5, 10 e 10 μ l do extrato da amostra e 1, 3, 5 e 10 μ l do padrão de zearalenona de concentração conhecida. Na segunda mancha de 10 μ l da amostra foram aplicados 5 μ l do padrão de zearalenona. O cromatograma A foi desenvolvido em etanol-clorofórmio (5:95). Quando presente, a zearalenona apresenta uma fluorescência azul em R_f 0,5-0,6 sob luz ultravioleta (254 nm). Fez-se então a comparação entre a intensidade de fluorescência das alíquotas das amostras com a dos padrões e calculou-se a quantidade de zearalenona presente.

Em seguida, pulverizou-se a placa com tricloreto de alumínio e aqueceu-se a 130 °C, por 5 minutos. O aparecimento de fluorescência azul a 366 nm comprova presença de zearalenona causada pelo deslocamento batocrômico. Paralelamente, utilizou-se o método descrito por SCOTT et alii¹⁹ para a placa B, cujo cromatograma foi desenvolvido em clorofórmio-acetona (88:12). Pulverizou-se a seguir com solução de "Fast Violet B" e tampão pH 9,0. Secou-se com ar quente e observou-se mancha rosa sob luz visível. Pulverizou-se a placa com H₂SO₄ a 50% e aqueceu-se a 120 °C, por 5 minutos. O aparecimento de mancha violeta comprova a presença de zearalenona. A quantificação pode ser feita também por comparação das colorações dos derivados formados das alíquotas das amostras e padrões.

Para análise de ocratoxina A foi utilizado o método descrito por SOARES & RODRIGUEZ-AMAYA²³, que envolve extração com metanol-solução aquosa de cloreto de potássio, a 4%, purificação com sulfato de amônio a 30% e partição com clorofórmio. O extrato assim obtido foi usado para triagem em coluna de alumina-sílica gel e posterior confirmação e quantificação por cromatografia em camada delgada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na análise das 83 amostras de milho em grão são apresentados na tabela 1.

Verificando a tabela 2, observa-se que das quinze amostras positivas para aflatoxina somente duas apresentaram teor acima de 30 μ g/kg, que é a tolerância máxima permitida pela legislação brasileira¹, calculada pela soma dos teores das aflatoxinas B₁ e G₁.

Observando a tabela 3, em que é mostrada a relação de positividade de aflatoxina com predominância de aflatoxina B₁ e/ou G₁, nota-se uma correspondência nos resultados

encontrados em Minas Gerais com os da monitoração de milho em grão realizada em São Paulo, em 1981, ou seja, uma predominância de aflatoxina G₁.

TABELA 1

Incidência de aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona em milho em grão

Amostras analisadas	Amostras positivas para		
	aflatoxinas	ocratoxina	zearalenona
83	15	0	1

TABELA 2

Níveis de aflatoxinas B₁ e G₁ em milho em grão

Amostras positivas	Procedência	Aflatoxina B ₁ μg/kg (ppb)	Aflatoxina G ₁ μg/kg (ppb)
1	Santa Rita de Caldas	6	ND
1	São João Del Rey	2	19
1	Lagoa Dourada	6	ND
1	Elói Mendes	24	6
1	Muzambinho	ND *	3
1	Cristais	ND	3
1	Inconfidentes	355	ND
1	Estiva	710	75
3	Adrelândia	ND	3
1	Alterosa	12	3
1	Monte Santo de Minas	ND	3
1	Monsenhor Paulo	ND	6
1	Boa Esperança	12	ND
15	* ND = não detectado.		

TABELA 3

Relação positividade — presença de aflatoxina B₁ e/ou G₁ em amostras de milho em grão de Minas Gerais, 1984, e de São Paulo, 1981

Localidade	Amostras analisadas	Amostras positivas	Amostras com B ₁	Amostras com G ₁	Amostras com B ₁ e G ₁
Minas Gerais (1984)	83	15	4	7	4
São Paulo (1981)	198	18	3	13	2

Trabalho realizado por FONSECA ⁴, com torta e farelo de amendoim da safra de 1966/67 de São Paulo, relata predominância da aflatoxina G na região de Araraquara-Fernandópolis. Explicação para esse fato pode estar ligada à presença de metais no solo, como o zinco, que leva o *A. flavus* a produzir mais aflatoxina G do que B, ou à ocorrência de linhagens específicas de *A. flavus*, produtoras de aflatoxina G em maior escala ^{2, 4}. Observando a tabela 2, nota-se que três amostras provenientes da cidade de Andrelândia apresentaram positividade para aflatoxina G ₁.

Quanto à incidência de zearalenona, nesta primeira fase do trabalho, verificou-se que foi baixa, tendo sido detectada, em apenas uma amostra, no teor de 126 µg/kg. Quanto à sensibilidade de revelação, nos procedimentos adotados, um melhor resultado

foi obtido através do método descrito por SCOTT et alii ¹⁹ do que pelo método de STOLOFF & SCOTT ²⁴. Isso pode ser verificado nas tabelas 4 a 7 onde, após contaminação do milho com quantidades que variaram de 40 a 560 µg/kg de zearalenona, o limite de detecção encontrado para "Fast Violet B", que foi o revelador usado por SCOTT et alii ¹⁹, está próximo de 10 ng, enquanto o limite para cloreto de alumínio, recomendado por STOLOFF & SCOTT ²⁴ é cerca de 20 ng. No milho contaminado com 110 e 60 µg/kg de zearalenona, nas concentrações na placa de 4 a 37 ng, esta não foi detectada pelo método de STOLOFF ²⁴ e pelo de SCOTT et alii ¹⁹. Cumpre salientar que a amostra que deu positividade para zearalenona não apresentou fluorescência a 254 nm e a 366 nm, após reação com cloreto de alumínio, o que demonstra a melhor sensibilidade do primeiro método.

TABELA 4

Milho contaminado com 560 µg/kg de zearalenona

Concentração de zearalenona na placa ng	Detecção pelos métodos de		
	Stoloff & Scott ²⁴		Scott et alii ¹⁹
	254 nm	366 nm após AlCl ₃	Luz visível após "Fast Violet B"
5,0	—	—	—
11,0	—	—	+
22,0	—	+	+
56,0	+	+	+
112,0	+	+	+

(+) = positivo para zearalenona.

(—) = negativo para zearalenona.

TABELA 5

Milho contaminado com 450 µg/kg de zearalenona

Concentração de zearalenona na placa ng	Detecção pelos métodos de		
	Stoloff & Scott ²⁴		Scott et alii ¹⁹
	254 nm	366 nm após AlCl ₃	Luz visível após "Fast Violet B"
7,0	—	—	—
15,0	—	—	+
30,0	—	+	+
75,0	+	+	+
150,0	+	+	+

(+) = positivo para zearalenona.

(—) = negativo para zearalenona.

TABELA 6

Milho contaminado com 140 µg/kg de zearalenona

Concentração de zearalenona na placa ng	Detecção pelos métodos de		
	Stoloff & Scott ²⁴		Scott et alii ¹⁹
	254 nm	366 nm após AlCl ₃	Luz visível após "Fast Violet B"
10,0	—	—	—
15,0	—	—	—
19,0	—	—	+
24,0	—	+	+
47,0	+	+	+

(+) = positivo para zearalenona.

(—) = negativo para zearalenona.

TABELA 7

Recuperação de zearalenona adicionada ao milho em diferentes níveis

Níveis de zearalenona µg/kg	Resultado encontrado µg/kg	Porcentagem de recuperação
560	535	96,0
450	534	118,0
340	320	94,0
225	214	95,0
170	171	100,6
140	143	102,0

Foi realizada, também, para os diferentes níveis de contaminação citados a quantificação de zearalenona, utilizando Fast Violet B como revelador, o que demonstrou que o procedimento adotado neste trabalho foi correto (tabela 7).

Outra vantagem que pode ser citada é a da maior especificidade da revelação descrita por SCOTT et alii¹⁹. Alternariol e metil éter alternariol, dois metabólitos fenólicos da *Alternaria*, já detectados em sorgo¹⁷, apresentaram as mesmas características, a 254 e a 366 nm, após pulverização com cloreto de alumínio, que a zearalenona, podendo então ser confundidos com esta; entretanto, não reagem com Fast Violet B. Uma das amostras, após tratamento segundo STOLOFF & SCOTT²⁴, apresentou cromatograma típico da presença de zearalenona. Contudo, a positividade não se confirmou após reação com Fast Violet B.

Quanto à incidência de ocratoxina A, observa-se pela tabela 1 que esta não foi detectada em nenhuma das amostras analisadas. O limite de detecção do método utilizado é de 10 µg/kg, não sendo citado na literatura nenhum outro procedimento cromatográfico com sensibilidade menor.

CONCLUSÃO

Os dados obtidos nesta primeira parte do trabalho indicam que a incidência de aflatoxinas, zearalenona e ocratoxina A em milho de Minas Gerais não reflete uma preocupação mais séria como a que ocorre com aflatoxina em amendoim. Entretanto, teremos uma visão real quando avaliarmos a safra de milho de 1985/86, e que constituirá a parte 2 do nosso trabalho.

SABINO, M.; PRADO, G. & COLEN, G. — Occurrence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in corn grain from Minas Gerais state Brazil. Part I. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):65-71, 1986.

ABSTRACT: The occurrence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone was shown by thin-layer chromatography, in samples of corn grain from the 1984 crop in various places of Minas Gerais state. Of eighty three samples analyzed, fifteen had aflatoxin and only one zearalenone. Ochratoxin A was not detected in any sample.

DESCRIPTORS: corn (grain), contamination by micotoxins; aflatoxin, ochratoxin A, zearalenone, detection in corn grain.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Leis, decretos etc. — Resolução n.º 34/76 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. *Diário Oficial*, Brasília, 19 jan. 1977. Seção I, pt. I, p. 710. Fixa padrões de tolerância para as aflatoxinas em alimentos.
- DAVIS, N.D.; DIENER, V.L. & ELDRIDGE, D.W. — Production of aflatoxins B₁ and B₂ by *Aspergillus flavus* in a semisynthetic medium. *Appl. Microbiol.*, 14:378-80, 1966.
- FONSECA, H. — *Contribuição ao estudo da aflatoxina no amendoim (Arachis hypogaea L.) da colheita à industrialização*. Piracicaba, 1969. [Tese livre-doc. — Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP]
- FONSECA, H. — *Contribuição ao estudo da ocorrência de aflatoxinas em tortas, farelos e farinhas de amendoim (Arachis hypogaea L.) no Estado de São Paulo*. Piracicaba, 1968. 65 p. [Tese — Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP]
- GIMENO, A. — Thin layer chromatographic determination of aflatoxins, sterigmatocystin, zearalenone, citrinin, t-2-toxin, diacetoxyscirpenol, penicillic acid, patulin and penitrem A. *J. Assoc. off. anal. Chem.*, 62:579-85, 1979.
- KROGH, P. — Microbial nature and biological property of ochratoxins. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MYCOTOXINS. Cairo, 1981. *Proceedings*. Cairo, NIDOC/AOAC, 1983. p. 81-6.
- KROGH, P. & NESHEIM, S. — Ochratoxin A. In: INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER — *Environmental carcinogens selected methods of analysis*. v. 5: *Some mycotoxins*. Edited by H. Egan et alii. Lyon, IARC, 1982. p. 249. (IARC publ. n.º 44)
- LEE, S.C. & CHU, F.S. — Enzyme-linked immunosorbent assay of ochratoxin A in wheat. *J. Assoc. off. anal. Chem.*, 67: 45-7, 1984.
- MIROCHA, C.J. — Fusarium toxins. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MYCOTOXINS. Cairo, 1981. *Proceedings*. Cairo, NIDOC/AOAC, 1983. p. 71-9.
- MIROCHA, C.J. — Historical aspects of mycotoxicology and developments in aflatoxicosis. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MYCOTOXINS. Cairo, 1981. *Proceedings*. Cairo, NIDOC/AOAC, 1983. p. 23-31.
- MIROCHA, C.J.; SCHAUERHAMER, B. & PATHRE, S.V. — Isolation, detection, and quantitation of zearalenone in maize and barley. *J. Assoc. off. anal. Chem.* 57:1104-10, 1974.
- PRADO, G. — Incidência de aflatoxina B₁ em alimentos. *Rev. Farm. Bioquim.*, 5: 147-57, 1983.
- PRZYBYLSKI, W. — Formation of aflatoxin derivatives on thin layer chromatographic plates. *J. Assoc. off. anal. Chem.*, 58:163-4, 1975.
- SABINO, M. — Variações de níveis de aflatoxina B₁ em alimentos e rações animais no período de 1971 a 1979. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40:153-8, 1980.
- SABINO, M. & CORRÊA, M.J.S. — Aflatoxina B₁ em feijão. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41:83-7, 1981.
- SABINO, M.; INOMATA, E.I. & LAMARDO, L.C.A. — Variação dos níveis de aflatoxina B₁ em pasta de amendoim e paçoca consumidas no Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 42:39-44, 1982.
- SEITZ, L.M.; SAUER, D.B.; MOHR, H.E.; BURROUGHS, R. & PAUKSTELIS, J.V. — Metabolites of alternaria in grain sorghum. Compounds which could be mistaken for zearalenone and aflatoxin. *J. agric. Food Chem.*, 23:1-4, 1975.

18. SHERWOOD, R.F. & PEBERDY, J.F. — Production of the mycotoxin, zearalenone, by *Fusarium graminearum* growing on stored grain. I. Grain storage at reduced temperatures. *J. Sci. Food Agric.*, 25: 1081-7, 1974.
19. SCOTT, P.M.; PANALAKS, T.; KANHERE, S. & MILES, W.F. — Determination of zearalenone in cornflakes and other corn-based foods by thin layer chromatography, high pressure liquid chromatography, and gas-liquid chromatography/high resolution mass spectrometry. *J. Assoc. off. anal. Chem.*, 61:593-600, 1978.
20. SCOTT, P.M.; TRENHOLM, H.L. & SUTTON, M.D., ed. — *Mycotoxins: a canadian perspective*. Ottawa, National Research Council of Canada, 1985, p. 15, 21. (NRCC publ. n.º 22848)
21. SCUSSEL, V.M. & RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. — Teores de aflatoxinas em amendoim e seus produtos comercializados em Campinas em 1980/82. *Bol. Soc. bras. Cienc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 19(2): 109-19, 1985.
22. SHOTWELL, O.L. — Aflatoxin in corn. *J. amer. Oil Chem. Soc.*, 54:216A-224A, 1977.
23. SOARES, L.M.V. & RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. — Screening and quantitation of ochratoxin A in corn, peanuts, beans, rice and cassava. *J. Assoc. off. anal. Chem.*, 68:1128-30, 1985.
24. STOLOFF, L. & SCOTT, P.M. — Natural poisons. In: ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS — *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 14th ed. Arlington, Virginia, A.O.A.C., 1984. p. 481-483; 499.
25. WORLD HEALTH ORGANIZATION — *Mycotoxins*. Geneva, UNEP/WHO, 1979. 127 p. (Environmental Health Criteria 11)

Recebido para publicação em 13 de fevereiro de 1986.

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE SUCO DE TOMATE NATURAL EM SUCO DE TOMATE INDUSTRIALIZADO *

Emiko Ikejiri INOMATA **
Myrna SABINO **
Alice Haruko ICHIKAWA **

RIALA6/612

INOMATA, E.I.; SABINO, M. & ICHIKAWA, A.H. — Determinação do teor de suco de tomate natural em suco de tomate industrializado. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):73-79, 1986.

RESUMO: Foi determinado o teor de ácido glutâmico livre, componente constante e natural do tomate, e utilizado como parâmetro no controle de qualidade e autenticidade dos sucos de tomate industrializados. O método químico desenvolvido baseia-se na extração dos aminoácidos livres, separação do ácido glutâmico por cromatografia em papel circular, revelação com ninidrina e dosagem espectrofotométrica do derivado colorido. Foram analisadas 51 amostras de sucos genuínos de tomate, preparados em laboratório, cujo teor médio de ácido glutâmico livre encontrado foi de 165,2 mg/100 g do suco. Em 52 amostras de sucos de tomate industrializados, o teor de ácido glutâmico livre encontrado variou de 257,0 a 132,0 mg/100 g. A sensibilidade do método permite a determinação do suco de tomate nesses produtos até a concentração de 1,0%. Foram determinados outros componentes no suco, entre os quais, as vitaminas e os elementos minerais.

DESCRITORES: tomate (*Solanum lycopersicum*), suco, determinação do ácido glutâmico livre; suco de tomate industrializado, análise química.

INTRODUÇÃO

O tomate, fruto de uma planta herbácea anual pertencente à família das solanáceas (*Solanum lycopersicum*)¹⁰, originou-se na América do Sul, numa estreita área ao longo das costas do Peru e do Equador, sendo levado em épocas pré-colombianas para o México, onde foi domesticado. Dessa região, foi levado para a Europa, pelos conquistadores, sendo consumido como alimento em vários países europeus³.

A expansão da cultura do tomate, no Brasil, deve-se à introdução da variedade Santa Cruz, em nosso país, por volta de 1938². O tomate é a hortaliça mais popular e de maior expressão econômica do Brasil. O consumo do fruto "in natura" e de seus produtos é generalizado; o suco, a massa, o pó e os doces de tomate são explorados indus-

trialmente³. Este consumo é elevado, devido à aparência agradável e valor nutritivo do fruto^{1, 4}, que é uma fonte de vitamina C¹⁴.

A determinação do suco de tomate que entra na composição dos produtos industrializados (refrescos, concentrados e aperitivos) constitui um sério problema para os laboratórios incumbidos de controlar a qualidade e autenticidade de tais produtos, pois a literatura especializada não registra nenhum método confiável para esse fim. Para isso, procuramos encontrar, no tomate, um componente quimicamente dosável e em porcentagem razoavelmente constante para servir de parâmetro no controle de qualidade desses produtos. Escolhemos o estudo dos aminoácidos livres presentes no suco de tomate, com base em vários trabalhos publicados na literatura^{7, 8, 15}, que constataram ser razoavelmente constante o teor de aminoácidos, independentemente da sua origem geográfica.

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

As cromatografias em coluna¹², em camada delgada¹³ e em papel⁵ têm sido utilizadas com muito sucesso na separação dos aminoácidos. SARAVACOS et alii¹¹ identificaram os aminoácidos livres no suco de tomate e verificaram que o ácido glutâmico é o aminoácido presente em maior concentração neste suco.

O método que desenvolvemos baseia-se na extração dos aminoácidos livres no suco de tomate, separação do ácido glutâmico, que é um componente constante e natural desta hortaliça, por cromatografia em papel circular, revelação com ninidrina e quantificação espectrofotométrica. Paralelamente foi feita uma reavaliação dos diversos componentes deste suco^{9, 16}.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Foram analisadas, quanto ao teor de ácido glutâmico livre, 52 amostras de suco de tomate industrializado, colhidas nos supermercados da Capital de São Paulo ou recebidas para análise no Instituto Adolfo Lutz, e 51 amostras de suco de tomate natural, provenientes de diversas regiões do Estado de São Paulo, colhidas em diferentes épocas, durante o período de 3 anos. Para a tomada de cada uma das amostras de suco natural de tomate, foram utilizadas 5,0 kg de tomate homogeneizado, do qual se retiraram 5,0 kg do suco, que foram submetidos a análise.

Equipamento

Espectrofotômetro *

Reagentes

Isopropanol p.a.

N-butanol p.a.

Ácido acético p.a.

Ácido glutâmico p.a.

Ninidrina p.a.

Acetona p.a.

Sulfato de cobre (CuSO₄.5 H₂O) p.a.

Etanol p.a.

Solventes

Solução de isopropanol: isopropanol a 10,0% v/v, em água.

Solução de sulfato de cobre: CuSO₄.5 H₂O a 0,04% p/v, em água.

Solução — padrão de ácido glutâmico p.a.: solução estoque de 0,50 mg/ml em isopropanol a 10,0%. Manter essa solução em refrigerador.

Solvente para cromatografia: N-butanol — ácido acético — água (4:1:1). Preparar no momento de usar.

Solução eluente: etanol-sulfato de cobre a 0,04% (3:1).

Revelador

Solução de ninidrina a 0,4%, p/v, em acetona p.a. Conservar em refrigerador.

Procedimento

a) Amostras de suco de tomate natural

Triturar o tomate no liquidificador. Filtrar o suco em gase e conservá-lo no congelador. Pesar 5,0 g do suco, transferir para um balão volumétrico de 25 ml e completar o volume com solução de isopropanol a 10,0%. Transferir a solução contida no balão volumétrico para um frasco Erlenmeyer de 125 ml e agitar durante 30 minutos; em seguida, centrifugar a 3.000 rpm por 5 minutos.

Cromatografia: Utilizar a técnica de INOMATA et alii⁹, com a seguinte modificação: aplicar no papel, através de micropipeta, de 20 a 40 μ l do sobrenadante da solução isopropanólica do tomate e, num segundo ponto de partida, aplicar exatamente 20 μ l da solução de ácido glutâmico padrão. Recortar a mancha de ácido glutâmico padrão e a correspondente à do tomate, do mesmo R_f (0,4-0,5), transferi-las para tubos de centrífuga e eluí-las com 4,0 ml da solução eluente. Agitar e esperar 15 minutos. Centrifugar a 3.000 rpm por 5 minutos. Ler a absorbância dos sobrenadantes a 520 nm no espectrofotômetro, usando como branco a solução eluente previamente tratada com pedaços de papel utilizados na cromatografia. Calcular o teor de ácido glutâmico no suco de tomate preparado no laboratório, através da fórmula:

$$\frac{f \times A_a}{A_p \times V} = \text{mg de ácido glutâmico por } 100 \text{ g de suco, nas condições propostas}$$

A_a = absorbância da amostra

A_p = absorbância do padrão

V = volume em μ l da solução da amostra cromatografada

f = fator de diluição da amostra. O fator de diluição é a relação entre o volume final e o volume inicial da amostra. Nas condições propostas, o fator de diluição corresponde a 5.000.

b) Amostras de suco de tomate industrializado

Pesar 5,0 g do suco de tomate e proceder como para o suco de tomate natural preparado no laboratório. Calcular a porcentagem

* Coleman Júnior II, modelo 6/35.

de suco natural no produto, usando a fórmula:

$$\frac{C \times 100}{165,2} = \text{porcentagem de suco natural de tomate no produto}$$

C = quantidade de ácido glutâmico em mg por 100 g calculada na fórmula anterior

165,2 = valor médio em mg por 100 g de ácido glutâmico no suco natural de tomate

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 mostra o aminograma (porcentagem do total de aminoácidos livres no suco de tomate natural), onde verificamos que, no Rf compreendido entre 0,4 e 0,5, estão presentes o ácido glutâmico e a treonina. Foi feita uma cromatografia em papel bidimensional desta zona, usando na primeira fase o solvente butanol — ácido acético — água (4:1:1), e, na segunda fase, fenol — amônia (4:1); revelando com ninidrina, observamos uma separação nítida dos dois aminoácidos; a mancha violeta correspondente ao ácido glutâmico foi bem mais intensa do que a mancha da treonina. Os aminoácidos foram identificados pelas posições indicadas pelos padrões, no próprio cromatograma, e não pelos Rf como se faz usualmente.

Fazendo o doseamento do derivado colorido, verificamos que a concentração de treonina é desprezível em relação à do ácido glutâmico. Por isso, na cromatografia em papel circular, na zona Rf 0,4-0,5, consideramos apenas a presença de ácido glutâmico, como mostra a figura ao lado. Constatamos que este é o aminoácido presente em maior concentração no suco de tomate, conforme descrito na literatura¹¹.

A tabela 2 mostra os valores de ácido glutâmico livre encontrados, por cromatografia em papel circular, nas 51 amostras de suco genuínos preparados no laboratório. O teor médio de ácido glutâmico livre obtido nessas

amostras foi de 165,2 mg/100 g, sendo que o valor máximo encontrado foi de 192,0 mg/100 g e o mínimo de 145,0 mg/100 g. O teor médio acima mencionado foi usado como parâmetro no controle de qualidade dos sucos de tomate industrializados expostos ao consumo.

A estabilidade do ácido glutâmico foi testada: o suco foi mantido em condições ambientais durante 3 meses e o teor de seu aminoácido foi determinado de 15 em 15 dias. Através dos resultados obtidos, observamos que o ácido glutâmico é muito estável, não havendo variação significativa nos valores determinados.

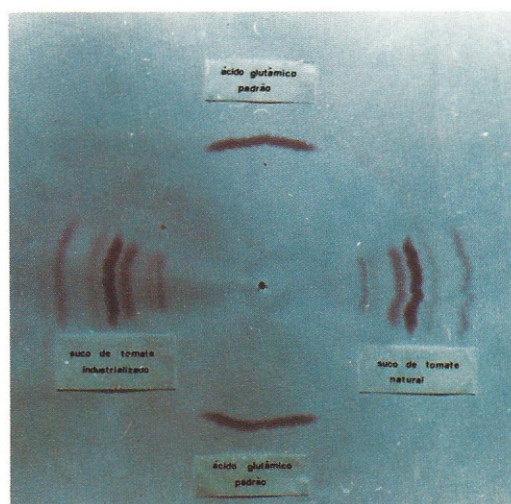


FIGURA — Cromatografia em papel circular do suco de tomate natural, preparado em laboratório, e do suco de tomate industrializado.

TABELA 1

Percentagem de aminoácidos livres no suco de tomate natural, preparado em laboratório

Rf	Aminoácidos	%
0,1 — 0,2	Cistina	NE
0,2 — 0,3	Lisina, taurina, histidina, arginina, asparagina	4,56
0,3 — 0,4	Glicina, ácido aspártico, serina	26,18
0,4 — 0,5	Ácido glutâmico, treonina	36,32
0,5 — 0,6	Alanina, prolina	3,04
0,6 — 0,7	Tirosina, triptofano	26,18
0,7 — 0,8	Fenilalanina, metionina, valina	2,19
0,8 — 0,9	Leucina, isoleucina	1,52

NE = não encontrada.

TABELA 2

Teor de ácido glutâmico livre em sucos de tomate natural, preparados no laboratório

Amostra n.º	Ácido glutâmico livre mg/100 g	Amostra n.º	Ácido glutâmico livre mg/100 g
1	180,0	27	152,5
2	174,0	28	189,0
3	186,0	29	150,0
4	168,5	30	151,0
5	178,0	31	186,1
6	145,0	32	142,5
7	156,4	33	173,4
8	150,0	34	190,0
9	153,2	35	192,0
10	151,0	36	151,4
11	178,0	37	156,8
12	146,5	38	162,0
13	148,0	39	165,0
14	190,0	40	179,0
15	185,3	41	180,0
16	166,0	42	155,0
17	159,2	43	148,0
18	150,0	44	183,2
19	173,0	45	176,7
20	150,0	46	177,0
21	176,5	47	148,0
22	172,0	48	151,8
23	151,0	49	147,0
24	155,8	50	167,3
25	171,0	51	163,1
26	173,2		

Media \pm desvio padrão: 165,2 \pm 14,7

TABELA 3

Recuperação do ácido glutâmico adicionado ao suco de tomate

Amostra n.º	Ácido glutâmico recuperado %
1	109,0
2	102,0
3	98,0
4	98,5
5	98,0
Média \pm desvio padrão	99,3 \pm 1,53

TABELA 4

Teor de ácido glutâmico livre e percentagem de suco de tomate natural nos produtos industrializados

Amostra n.º	Marca do produto	Ácido glutâmico livre mg/100 g	Suco natural %
1	A	165,0	99,87
2	A	173,5	105,02
3	A	192,0	116,22
4	A	183,2	110,90
5	A	210,3	127,30
6	A	168,0	101,69
7	A	188,5	114,10
8	A	203,4	123,12
9	A	198,1	119,92
10	A	202,0	122,28
11	A	205,8	124,58
12	A	182,3	110,35
13	A	178,9	108,29
14	B	190,0	115,01
15	B	184,2	115,50
16	B	212,5	128,63
17	B	178,0	107,75
18	B	203,3	123,06
19	B	208,0	125,91
20	B	188,2	113,92
21	B	182,0	110,17
22	B	193,0	116,83
23	B	200,0	121,07
24	B	200,5	121,37
25	B	203,0	122,88
26	C	185,0	111,99
27	C	187,0	113,20
28	C	184,0	111,38
29	C	184,6	111,74
30	C	165,4	100,12
31	C	204,0	123,49
32	C	207,5	125,61
33	C	192,0	116,22
34	C	186,0	112,59
35	C	205,0	124,09
36	C	200,8	121,55
37	C	185,0	111,99
38	D	221,0	133,78
39	D	221,0	133,78
40	D	215,5	130,45
41	D	250,0	151,33
42	D	257,0	155,57
43	E	148,0	89,59
44	E	145,0	87,77
45	E	132,0	79,90
46	E	135,5	82,02
47	E	165,0	99,88
48	F	138,3	83,72
49	F	163,0	98,67
50	F	158,0	95,64
51	F	133,5	80,81
52	F	180,0	108,96

TABELA 5

Determinações diversas no suco de tomate natural

Determinações	Valores encontrados	
	g/100 g	mg/100 g
Resíduo seco (substância seca), a vácuo, a 70°C	3,88	—
Lipídios	0,24	—
Protídios	0,80	—
Resíduo mineral fixo	0,47	—
Carboidratos totais	3,50	—
Cloretos em cloreto de sódio	0,15	—
Tiamina	—	0,055
Riboflavina	—	0,030
Niacina	—	0,75
Ácido ascórbico	—	15,00
Potássio (em K)	—	199,80
Sódio (em Na)	—	49,95
Ferro (em Fe)	—	0,83
Cálcio (em Ca)	—	7,00

A tabela 3 apresenta o teste de recuperação do ácido glutâmico. Foi usado, como suporte, suco de tomate industrializado, contendo 150,0 mg de ácido glutâmico por 100 g, aos quais se adicionaram 80,0 mg de ácido glutâmico por 100 g; a média obtida em 5 determinações foi de 99,3%; as determinações foram efetuadas em duplicata.

Para testar a reprodutibilidade do método, foram preparadas 5 diluições aquosas diferentes, a partir do suco-testemunho de concentração conhecida, cujas concentrações foram determinadas, seguindo rigorosamente a técnica descrita. Verificamos que este método permite a determinação do suco de tomate na concentração de até 1,0%.

Para estabelecer o controle de qualidade dos produtos industrializados, determinamos o teor de ácido glutâmico livre em 52 amostras de sucos de tomate industrializados, de diferentes fabricantes, colhidas em diversos supermercados, cujos resultados se encontram na tabela 4. Analisando esta tabela, notamos apenas que 6 amostras não concordaram com o teor declarado na rotulagem.

Devido à importância do tomate na alimentação humana, foi feita uma reavaliação do valor nutritivo no suco; as vitaminas e os elementos minerais foram determinados de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz⁹, e os dados obtidos encontram-se na tabela 5. As quantidades encontradas estão de acordo com os dados apresentados na literatura^{3, 4, 16}.

CONCLUSÃO

Os dados obtidos neste trabalho permitem concluir que:

— O controle de qualidade e autenticidade dos sucos de tomate industrializados pode ser

feito através da determinação do conteúdo de ácido glutâmico livre nas amostras. A sensibilidade do método proposto permite a determinação da quantidade de suco de tomate na concentração de até 1,0%.

— O método apresentado é simples, reproduzível e realizável em laboratórios modestos. Assim, pudemos manter o nosso espírito de oferecer aos técnicos, sempre que possível, métodos analíticos simples, que não necessitem de equipamentos especializados.

— Através dos resultados obtidos nas 52 amostras analisadas de sucos de tomate industrializados, onde apenas 6 amostras apresentaram resultados discordantes do teor declarado no rótulo, podemos afirmar que a maior parte dos sucos de tomate distribuídos ao consumidor são genuínos.

— Este trabalho é de grande interesse para a nossa Instituição pois, sendo o Instituto Adolfo Lutz um Laboratório Oficial de Saúde Pública, tem como uma das principais finalidades, o controle da qualidade dos produtos alimentícios consumidos pela população. Atualmente não é feito o controle do teor de suco de tomate nos produtos industrializados; portanto, este trabalho terá uma parcela de contribuição no melhoramento da vigilância sanitária.

— A importância do suco de tomate na alimentação humana ficou mais uma vez confirmada, com os valores vitamínicos e minerais encontrados neste trabalho.

Agradecimentos

Agradecemos a colaboração do Dr. Mário Tavares, do Instituto Adolfo Lutz, na determinação da composição centesimal do suco de tomate; à Seção de Equipamentos Especializados, pela análise dos elementos minerais no suco.

INOMATA, E.I.; SABINO, M. & ICHIKAWA, A.H. — Determination of natural tomato juice in industrialized tomato juice. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2): 73-79, 1986.

ABSTRACT: Free glutamic acid, a stable component of tomato juice was separated from the aminoacids which had been previously extracted from the juice. Circular filter paper chromatography and spectrophotometric determination of the violet derivative of glutamic acid obtained with indanetrione hydrate were determined. A mean content of 165.2 mg per 100 g of juice was obtained in 51 samples of tomato juice prepared in the laboratory. Values ranging from 257.0 to 132.0 mg per 100 g were found in 52 samples of industrialized juice. The sensitivity of the method allows detection of free glutamic acid in tomato juice diluted 100 times.

DESCRIPTORS: tomato (*Solanum lycopersicum*) juice, determination of free glutamic acid; tomato juice, industrialized, chemical test.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDEL-RAHMAN, A.H.Y. — Nutritional value of some canned tomato juice and concentrates. *Food Chem.*, 9:303-6, 1982.
2. BERNHARDT, L.W.; YANG, J.F.; MORAES, R.M.; FERREIRA, V.L.P. & DRAETA, I.S. — Caracterização física e química de suco de novas variedades de tomate. *Bol. Inst. Tecnol. Aliment.*, 50: 205-23, 1977.
3. GARCÍA PUERTAS, P.; TORIJA ISASA, M.E. & ORZAEZ VILLANUEVA, M.T. — Elementos minerales en tomate y derivados. I: Macroelementos. *Anal. Bromatol.*, 33:313-28, 1981.
4. GARCÍA PUERTAS, P.; TORIJA ISASA, M.E. & ORZAEZ VILLANUEVA, M.T. — Elementos minerales en tomate y derivados. II: Microelementos. *Anal. Bromatol.*, 35:157-65, 1983.
5. HANDY, M.M. & GOULD, W.A. — Varietal differences in tomatoes. A study of alpha-keco acids: alpha-amino compounds and citric acid in eight tomato varieties before and after processing. *J. Agric. Food Chem.*, 10:499-503, 1962.
6. INOMATA, E.I.; SABINO, M.; PREGNOLATTO, W. & CONCILLIO, M.S. — Determinação do teor de suco de maracujá em produtos industrializados. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43:9-14, 1983.
7. KIM, D.H. & SEO, C.W. — Quality changes of foods during processing and storage. IV. Free amino acid composition of canned tomato juice during heat sterilization. *Kisul Yon'guso Pogo*, Korea, 1:11-4, 1962 apud *Chem. Abstr.*, 62:8320b, 1965.
8. MILADI, S.S.; GOULD, W.A. & CLEMENTS, R.L. — Heat processing effect on starch, sugars, proteins, amino acids and organic acids of tomato juice. *Food Technol.*, 23:691-3, 1969.
9. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3.^a ed. São Paulo, 1985. p. 378-404.
10. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas de qualidade para alimentos*. São Paulo, 1967. v. 6, (OFSANPAN, IALUTZ, PA 205.76)
11. SARAVACOS, G.; LUH, B.S. & LEONARD, S.J. — Ion-exchange chromatography of amino acids in tomato juice. *Food Res.*, 23:339-37, 1958.
12. SPACKMAN, D.H.; STEIN, W.H. & MOORE, S. — Automatic recording apparatus for use in chromatography of amino acids. *Anal. Chem.*, 30:1190-206, 1958.
13. STAHL, E., ed. — *Thin-layer chromatography: a laboratory handbook*. 2nd ed. Translated by M.R.F. Ashworth. Berlin, Springer-Verlag, 1969. p. 170-86.
14. TRESSLER, D.K. & JOSLYN, M.A. — *Fruit and vegetable juice: processing technology*. Westport, Conn., AVI Publ., 1961. p. 970-91.
15. TROYAN, Z.A. & TOTKO, A.G. — Amino acid composition of tomato juice. *Izy. Vyssh. Uchebn. zaved. Pishch. Tekhnol.*, 2:111-3, 1983 apud *Food Sci. Technol. Abstr.*, 16(7):62, 1984. [Abstr. 7H 1352]
16. WATT, B.K. & MERRILL, A.L. — *Handbook of the nutritional contents of foods*. New York, Dover Publ., 1975. p. 62

ISOLAMENTO DE PRINCÍPIOS ATIVOS DA PRÓPOLIS POR CROMATOGRÁFIA EM PAPEL BIDIMENSIONAL E DOSEAMENTO ESPECTROFOTOMÉTRICO *

Telma Teixeira FRANCO **

Alberto Keidi KUREBAYASHI **

RIALA6/613

FRANCO, T.T. & KUREBAYASHI, A. K. — Isolamento de princípios ativos da própolis por cromatografia em papel bidimensional e doseamento espectrofotométrico. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):81-86, 1986.

RESUMO: Através de cromatografia em papel bidimensional e doseamento espectrofotométrico de flavonóides totais, foi proposto um método de controle de qualidade para produtos contendo própolis. Este método foi aplicado a 21 amostras comerciais cujos rótulos declaravam a presença de própolis, mostrou ser acessível a laboratórios comuns e apresentou alta sensibilidade.

DESCRITORES: própolis, determinação dos flavonóides; flavonóides da própolis, determinação por cromatografia, espectrofotometria; própolis, controle de qualidade.

INTRODUÇÃO

A própolis é uma substância de composição complexa, formada por material resinoso, gomoso ou balsâmico, coletado, pelas abelhas, de brotos de árvores ou de outras partes do tecido vegetal, modificada na colméia pela adição de secreções salivares e cera^{4, 6}. É empregada pelas abelhas no reparo de frestas ou danos à colméia, no preparo de locais desinfetados para a postura da abelha-rainha, na mumificação de insetos invasores. A própolis é encontrada na entrada da colméia, sugerindo que este termo, derivado de duas palavras gregas — pró, que significa antes, e polis, que significa cidade — está relacionado com defesa da colméia, cidade das abelhas.

A utilização da própolis pelo homem remonta a milênios, sendo conhecida pelos incas e, no século XII, já estava na composição de inúmeros medicamentos. Em 1907, Hitchcock e Borish verificaram ser este material composto de 46% de resina, 27% de cera de abelha, 7% de substâncias voláteis e 13% de impurezas não-detectadas. Na época, já se

conhecia a adulteração de tinturas de própolis por cera de abelha, compostos metálicos e materiais densos insolúveis⁹.

A literatura atual relata propriedades farmacológicas da própolis proporcionais à sua concentração, tais como a antibacteriana, com indicações em otorrinolaringologia, antifúngica e inibidora do crescimento de leveduras, cicatrizante¹ e antioxidante, devido à presença de ácidos orgânicos aromáticos, ácidos graxos e compostos fenólicos nesta substância^{1, 3, 7}.

VANHAELEN & VANHAELEN-FASTRE, em 1979^{10, 11}, identificaram flavonóides na própolis através da cromatografia líquida de alta resolução e da cromatografia em fase gasosa. BANKOVA et alii¹ (1982) identificaram a presença de ácidos graxos, compostos fenólicos, ésteres, álcoois aromáticos e flavonóides, na própolis, tendo doseado estes últimos por cromatografia líquida de alta resolução¹.

O aumento da utilização da própolis na composição de diversos produtos, consumidos em São Paulo, acarretou um elevado número

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

de consultas ao Instituto Adolfo Lutz sobre sua composição, indicações ou contra-indicações e dosagens de seus princípios ativos, pois muitas são as indicações leigas para seu uso em méis, xaropes, cosméticos, tinturas etc., tendo às vezes sucesso terapêutico ou, em outros casos, servindo de panacéia.

A legislação brasileira regulamentou a utilização da própolis em cosméticos com limite máximo de 2,5% de concentração, sendo vedado o seu uso em produtos infantis². Não foi ainda regulamentado o seu uso em alimentos ou medicamentos.

O objetivo deste trabalho foi o de identificar e dosar classes de princípios ativos da própolis que pudessem servir de parâmetro de qualidade.

MATERIAL

Foram utilizadas 21 amostras de produtos contendo própolis, enviadas ao Instituto Adolfo Lutz por consumidores, produtores ou por entidades responsáveis pela fiscalização de tais produtos, assim distribuídas: 12 soluções alcoólicas de própolis; 12 soluções hidroalcoólicas de própolis; 4 amostras de méis contendo própolis; e 1 amostra de mel puro.

Apesar de não haver declaração no rótulo dos produtos indicando a concentração de própolis, através de contatos com produtores de tais produtos verificou-se que os extratos alcoólicos eram originários de soluções com concentração entre 1:10 e 3:10 (p/v), que as soluções hidroalcoólicas tinham diluição em água entre 1:50 ou mais (p/v), a partir do extrato alcoólico, e que os méis tinham de 1 a 5% de própolis bruto.

Utilizamos dois principais procedimentos: cromatografia em papel bidimensional descendente e doseamento espectrofotométrico.

MÉTODO

a) Cromatografia em papel para identificação de flavonóides⁵

Reagentes

Acetato de etila

Fase móvel *a*: isobutanol, ácido acético glacial e água (3:1:1)

Fase móvel *b*: ácido acético glacial e água (15:85)

Procedimento — Aplicar as soluções alcoólicas diretamente no papel ou, então, concentrá-las previamente. Extrair as soluções hidroalcoólicas, méis e xaropes conforme a

técnica que consiste em pesar de 1 a 5 gramas da amostra (dependendo da concentração da própolis no produto), adicionar 30 ml de água destilada e transferir para funil de separação; extrair com três porções de 10 ml de acetato de etila e reunir os extratos para posterior concentração em banho-maria ou rotavapor. Preparadas as amostras, aplicá-las no canto superior direito do papel previamente marcado com um espaço de 5 cm dos lados adjacentes à mancha, que servirão de apoio na canaleta do solvente (conforme figura 1). Saturar a cuba com a fase móvel *a*, colocar o papel na canaleta com auxílio de um bastão de vidro de mesma dimensão e adicionar o solvente cuidadosamente para não escorrer. Deixar por aproximadamente 18 horas (ou até que o solvente tenha atingido 2 cm da borda inferior da folha). Secar o papel em capela. Substituir a fase móvel *a* pela *b*. Girar o papel em ângulo de 90°, deixando toda a extensão da mancha percorrida agora paralelamente ao leito da canaleta. Correr o cromatograma por aproximadamente 5 horas. Secar o papel somente em capela e observar as manchas na luz ultravioleta (lâmpada ultravioleta longa). Marcar as manchas com lápis e então adicionar uma gota de hidróxido de amônio ou expor o papel ao vapor do mesmo. Observar novamente na região do ultravioleta (ver distribuição das manchas na figura 2).

b) Doseamento espectrofotométrico de flavonóides⁹

Equipamento

Espectrofotômetro (U.V. e visível)

Reagentes

Etanol absoluto

Solução de quercetina padrão

Solução de oxiclreto de zircônio (2,5%, p/v, em metanol)

Procedimento — Diluir as soluções alcoólicas e hidroalcoólicas diretamente em etanol absoluto. Diluir a própolis em bruto etanol absoluto até 0,001 g/ml. Extrair méis e xaropes conforme descrito no procedimento para cromatografia em papel, evaporar e diluir em etanol absoluto. Colocar alíquotas das amostras em tubos de vidro às quais se deve adicionar 1 ml de oxiclreto de zircônio por tubo. Completar o volume com etanol absoluto para 10 ml. Esperar 10 minutos e ler em espectrofotômetro a 301 nm, frente a branco de cada amostra sem oxiclreto de zircônio. Calcular o resultado em gramas de flavonóides totais expressos em quercetina por ml ou grama de amostra.

Curva-padrão — Pesar 0,01 grama de quercetina, transferir para balão de 100 ml e completar o volume com etanol absoluto

(0,1 mg/ml). Preparar diluições crescentes nos tubos de vidro de 0,1 ml até 2,0 ml. Adicionar a estas soluções 1 ml de oxiclreto de zircônio. Completar o volume para 10 ml com etanol absoluto. Esperar 10 minutos e ler a 301 nm. Construir a curva-padrão.

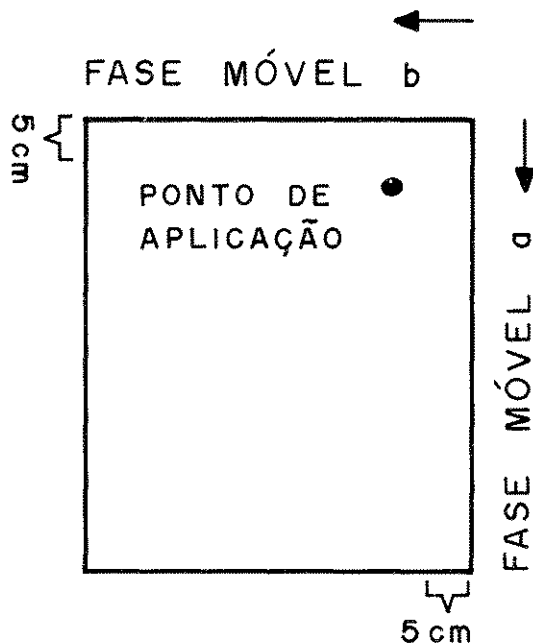


FIGURA 1 — Esquema da aplicação da amostra contendo própolis.

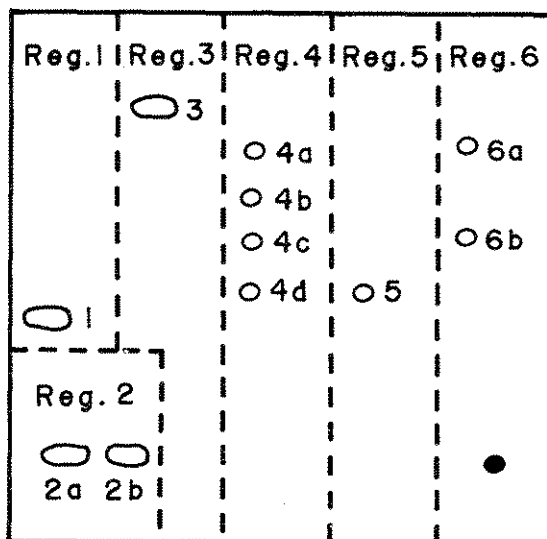


FIGURA 2 — Distribuição e caracterização das manchas de amostras contendo própolis: região 1, mancha rosa-amarelado, cuja coloração não se altera com a adição de NH_3 ; região 2, mancha marrom-claro, ou escuro, não-fluorescente, que se torna amarelada com adição de NH_3 ; região 3, mancha verde, fluorescente, que não reage com AlCl_3 ; região 4, duas a quatro manchas azuis, fluorescentes, cuja coloração não se altera com adição de NH_3 ; região 5, manchas azuis ou verdes, fluorescentes; região 6, uma ou duas manchas verdes, fluorescentes, que se tornam verde-amareladas com a adição de NH_3 .

RESULTADOS

A tabela 1 mostra a frequência com que as principais classes de flavonóides aparecem nos produtos contendo própolis. A figura 2 mostra o esquema da posição das manchas em um cromatograma, assim como suas respectivas cores quando expostas à luz ultravioleta na ausência e na presença de amônia.

A tabela 2 apresenta a concentração de flavonóides encontrados nos produtos analisados, onde se verifica que as soluções alcoólicas contêm um teor elevado de flavonóides (variando de 0,24 a 7,5 g/100 ml), enquanto que as soluções hidroalcoólicas,

produtos preparados a partir das soluções alcoólicas, misturadas com água, apresentam teor mínimo de flavonóides (0,007 a 0,050 g/100 ml).

DISCUSSÃO

Observamos que em todas as amostras comerciais, em cujos rótulos está declarada a presença da própolis, aparece a mancha da região 3. As manchas da região 4, que costumam aparecer juntas, aparecem em 60% das amostras. As manchas das regiões 1, 5 e 6 aparecem em 25% das amostras.

TABELA 1

Frequência de manchas de princípios ativos de produtos contendo própolis distribuídas pelas diversas regiões do cromatograma

N.º de amostras	Tipo de amostra	Regiões					
		1	2	3	4	5	6
1	Sol. própolis alcoólica	—	—	+	+	+	+
2	Sol. própolis alcoólica	—	—	+	+	—	—
3	Sol. própolis alcoólica	+	+	+	+	+	+
4	Sol. própolis alcoólica	—	—	+	+	—	+
5	Sol. própolis alcoólica	+	+	+	+	—	—
6	Sol. própolis alcoólica	+	+	+	+	+	+
7	Sol. própolis alcoólica	+	+	+	+	—	—
8	Sol. própolis alcoólica	—	—	+	+	—	—
9	Sol. própolis alcoólica	+	+	+	+	—	—
10	Sol. própolis alcoólica	—	—	+	—	—	—
11	Sol. própolis alcoólica	—	—	+	+	—	—
12	Sol. própolis alcoólica	—	—	+	+	+	—
13	Sol. própolis hidroalcoólica	—	—	+	—	—	—
14	Sol. própolis hidroalcoólica	—	—	+	—	—	—
15	Sol. própolis hidroalcoólica	—	—	+	—	—	—
16	Sol. própolis hidroalcoólica	—	+	+	—	—	—
17	Mel com própolis	—	—	+	+	—	—
18	Mel com própolis	—	—	+	+	—	—
19	Mel com própolis	—	+	+	—	—	—
20	Mel com própolis	—	—	+	—	—	—
21	Mel puro	—	—	—	—	—	—

(+) presente.

(—) ausente.

TABELA 2

Concentração de flavonóides livres

N.º de amostras	Tipo de amostra	Flavonóides expressos em quercetina g/100 ml
1	Sol. própolis alcoólica	0,300
2	Sol. própolis alcoólica	0,600
3	Sol. própolis alcoólica	3,700
4	Sol. própolis alcoólica	0,240
5	Sol. própolis alcoólica	1,120
6	Sol. própolis alcoólica	0,920
7	Sol. própolis alcoólica	1,600
8	Sol. própolis alcoólica	1,500
9	Sol. própolis alcoólica	7,500
10	Sol. própolis alcoólica	0,400
11	Sol. própolis alcoólica	0,600
12	Sol. própolis alcoólica	1,200
13	Sol. própolis hidroalcoólica	0,020
14	Sol. própolis hidroalcoólica	0,050
15	Sol. própolis hidroalcoólica	0,020
16	Sol. própolis hidroalcoólica	0,007
17	Mel com própolis	0,050
18	Mel com própolis	0,050
19	Mel com própolis	0,020
20	Mel com própolis	0,020
21	Mel puro	(—)

(—) = não-detectado.

Nas soluções hidroalcoólicas e méis, além da mancha da região 3, podem aparecer, em alguns casos, manchas das regiões 2 e 4, possivelmente devido à pequena concentração de própolis nestes tipos de produtos, o que é verificado pelo teor de flavonóides.

Os méis analisados contêm teor igualmente baixo de flavonóides livres, talvez pela adição de pequena concentração da tintura de própolis ou pela adição da borra da própolis já esgotada de princípios ativos.

Utilizamos a quercetina como padrão de doseamento de flavonóides por ser ela mais acessível aos laboratórios; entretanto, outros flavonóides podem ser utilizados, desde que possuam hidroxilas em sua estrutura para formação do quelato metal-flavonóide.

CONCLUSÃO

Através da cromatografia em papel bidimensional foi possível isolar princípios

ativos componentes da própolis em produtos comercializados. Verificamos ser freqüente a presença da mancha da região 3, que pode servir de indicador da presença de própolis, assim como das pequenas manchas azuis fluorescentes da região 4 que não reagem com hidróxido de amônio ou tricloreto de alumínio.

Através da reação com oxiclureto de zircônio e própolis, obtivemos um índice de flavonóides expresso em quercetina que nos fornece a concentração de própolis no produto. Esta reação apresenta elevada sensibilidade (0,001 grama de própolis-padrão por ml), embora possa sofrer interferência por outros compostos contendo anéis poliidroxilados.

FRANCO, T.T. & KUREBAYASHI, A.K. — Isolation of active principles of propolis through bidimensional paper chromatography and spectrophotometric determination. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):81-86, 1986.

ABSTRACT: A simple and sensitive method for the quality control of propolis products was devised through bidimensional paper chromatography and total flavonoids determination spectrophotometric.

DESCRIPTORS: propolis, flavonoid determination; propolis, quality control; paper chromatography; spectrophotometry.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BANKOVA, V.S.; POPOV, S.S. & MAREKOV, N.L. — High-performance liquid chromatographic analysis of flavonoids from propolis. *J. Chromatogr.*, 242:133-43, 1982.
2. BRASIL. Leis, decretos etc. — Portaria n.º 5, de 25 de fevereiro de 1985, da Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Cosméticos. *Diário Oficial*, Brasília, 4 mar. 1985. Seção I, p. 3536. Permite o uso de extrato de própolis em cosméticos...
3. KEPČIJA, D.J.; DIMITRIJEVIC, M. & STOJANOVIC, N. — An investigation of the antioxidant properties of propolis. *Acta Vet.*, Belgrado, 31:181-4, 1981 apud *Chem. Abstr.*, 202:190j, 1981.
4. LEITÃO, C.M. — *Glossário biológico: pequeno dicionário de termos empregados em ciências biológicas*. São Paulo, Editora Nacional, 1946. 646 p.
5. MABRY, T.J.; MARKHAM, K.R. & THOMAS, M.B. — *The systematic identification of flavonoids*. Berlin, Springer-Verlag, 1970. p. 1-61.
6. NIKOLAEV, A.B. — Defending the bee town. In: *A REMARKABLE hive product: propolis*. Bucharest, Apimondia, 1978. p. 10-137.
7. SZEWCZAC, E.H. & GODOL, G.F. — Verificação da sensibilidade dos *Staphylococcus aureus* à própolis. *Aerosol Cosmét.*, São Paulo, 19:16-22, 1982.
8. TAMAS, M. & MARINESCU, I. — Asupra continutului de flavone din mugurii de plop. *Stud. Cercet. Biochim.*, 26:182-5, 1983.
9. THORPE, E. — *Enciclopédia de Química Industrial*. Barcelona, Labor, 1923. p.
10. VANHAELEN, M. & VANHAELEN-FASTRÉ, R. — Propolis — I. Origine, micrographie, composition chimique et activité thérapeutique. *J. Pharm. Belg.*, 34:253-9, 1979.
11. VANHAELEN, M. & VANHAELEN-FASTRÉ, R. — Propolis — II. Identification par chromatographies haute-performance (liquide, gaz-liquide et sur couches minces des constituants. Bioautographie des chromatogrammes des composés antibactériens. *J. Pharm. Bel.*, 34:317-28, 1979.

Recebido para publicação em 7 de julho de 1986.

PESQUISA DE TOXINA PARALISANTE DOS MOLUSCOS EM PESCADO *

Leda C.A. LAMARDO **
Dilma Scala GELLI ***
Myrna SABINO **

RIALA6/614

LAMARDO, L.C.A.; GELLI, D.S. & SABINO, M. — Pesquisa de toxina paralisante dos moluscos em pescado. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):87-90, 1986.

RESUMO: A toxina paralisante dos moluscos foi pesquisada em amostras de ostras, mariscos e peixes, colhidas em diferentes praias do litoral paulista. Foram empregados dois procedimentos analíticos: o químico e o bioensaio. Em decorrência do aparecimento de manchas avermelhadas nas águas e mortalidade de peixes na região, no período de agosto a setembro de 1983, suspeitou-se do fenômeno de "maré vermelha". A toxina não foi detectada em nenhuma das amostras, pelos dois métodos empregados, que permitem segurança dos resultados, considerando que os testes foram realizados com o padrão de saxitoxina.

DESCRIPTORIOS: toxina paralisante dos moluscos, em peixe; saxitoxina, determinação em ostras, mariscos, peixes; espectrofluorimetria e bioensaio.

INTRODUÇÃO

A toxina paralisante dos moluscos é uma substância não-protéica responsável por intoxicações letais^{9, 21}. Esta toxina é formada por um grupo bem caracterizado de tetraidropurinas. Destas, a saxitoxina foi a primeira a ser conhecida. Posteriormente 12 outros componentes com estrutura química bastante próxima da saxitoxina foram descritos, tendo recebido designações diferentes, tais como: neosaxitoxina e gonyautoxina^{7, 11}.

A toxina paralisante dos moluscos é uma neurotoxina produzida por algas da família dos dinoflagelados, em especial do gênero *Gonyaulax* (*G. catenella*, *G. tamarensis*)^{9, 11, 21, 25}. Em determinadas condições ambientais (temperatura, salinidade, luz), a população de dinoflagelados pode aumentar desproporcionalmente em relação aos demais organismos marinhos, componentes do plâncton. A toxina é, então, produzida, liberada e se solubiliza na água. Como os moluscos bivalvos (mexilhões, mariscos, ostras) conse-

guem sua alimentação por sifonagem da água e retenção dos substratos dispersos na mesma, acumulam nos seus organismos esta toxina produzida pelas algas. Se ingeridos, estes moluscos veiculam a toxina ao organismo do animal predador e/ou consumidor humano. Ainda, outros organismos que compõem o plâncton marinho podem também atuar como veículo. Neste caso, a toxina pode também ser encontrada em outro pescado, como caranguejos, lagostas, peixes (de pequeno e médio porte). Os peixes são afetados por esta toxina que é causa de mortalidade desses animais. Além disso, aves marinhas e mamíferos são, também, sensíveis a esta classe de substância tóxica.

A toxina paralisante dos moluscos atua no organismo sensível bloqueando o impulso dos nervos periféricos e dos músculos do esqueleto, por interferir no balanço do sódio a nível de transmissão nervosa^{9, 11, 12, 13, 27, 28}.

As primeiras observações e investigações laboratoriais foram feitas na Califórnia¹⁷,

* Realizado nas Seções de Química Biológica e de Microbiologia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Da Seção de Química Biológica.

*** Da Seção de Microbiologia Alimentar.

em 1928. A extração da toxina foi efetuada nos moluscos marinhos *Saxidomus giganteus* (Alaska) e *Mytilus californianus* (Califórnia), tendo, por isto, recebido a denominação geral de saxitoxina^{4, 5, 18, 23}. Posteriormente, verificou-se que a saxitoxina não é a única toxina produzida no ambiente marinho pela explosão demográfica de determinadas algas^{20, 21}. A multiplicação dessas algas se dá por fatores climáticos, hidrográficos e necessidades nutricionais específicas de cada grupo de organismo, originando o fenômeno conhecido como "maré-vermelha"^{9, 10, 11, 20, 21, 22}.

As intoxicações por esta etiologia são caracterizadas por sensação de entorpecimento dos lábios, da língua, da garganta e das extremidades do corpo, acompanhada de náuseas, vômitos e dificuldade respiratória, podendo levar à paralisia respiratória e/ou cardíaca, que se segue(m) após cerca de 30 minutos da ingestão de moluscos e crustáceos marinhos contaminados, podendo levar a casos fatais^{8, 9, 21}.

Em maio de 1978, na Cidade do Cabo (África), 17 pessoas foram afetadas após a ingestão de produtos marinhos, apresentando sintomas típicos daquele tipo de intoxicação¹⁹. O mesmo aconteceu em 1980, no Uruguai, onde cerca de 60 pessoas foram afetadas pelos mesmos sintomas, logo após a ingestão de moluscos. Levantamento realizado de 1980 a 1982, neste país, mostrou maior número de pessoas contaminadas em 1980⁷. O diagnóstico laboratorial pode ser feito através de testes químicos^{3, 4, 15, 16, 26}, biológicos^{1, 2, 14, 22, 24} e, mais recentemente, imunoenzimático (ELISA⁶), para determinação da presença da toxina paralisante nas amostras.

No período de agosto a setembro de 1983, no litoral Sul paulista, foi constatada a mortalidade de peixes e o aparecimento de manchas avermelhadas nas águas costeiras. Amostras de peixes, ostras e mariscos desta região foram coletadas e encaminhadas ao Instituto Adolfo Lutz para verificar se estava presente a toxina paralisante dos moluscos, relacionada com o fenômeno "maré-vermelha".

MATERIAL

Foram analisadas 32 amostras, sendo 16 de peixes, 4 de ostras e 12 de mariscos. As unidades que compunham cada amostra eram variáveis, pois dependiam do tipo e dimensões do material colhido, e pesavam por volta de 2 quilogramas por espécie.

As amostras foram coletadas por barcos pesqueiros, em várias praias do litoral paulista, Indaiá, São Lourenço, Itaguaré, Pere-

quê, Tombo, Guarujá, Ilha Monte de Trigo, pelos Agentes de Saneamento de Vigilância da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, e no comércio destas localidades. Foram acondicionadas em sacos plásticos, transportadas e entregues sob refrigeração (4-10 °C), em 3 remessas diferentes.

As amostras enviadas receberam o seguinte tratamento: os peixes foram limpos, escamados, e sua pele retirada; as vísceras e a carne foram moídas e analisadas separadamente; os moluscos foram limpos e separados das valvas e suas vísceras e carne foram moídas e analisadas como um todo. As alíquotas retiradas para análise foram de 2,0 g para a determinação química e de 100,0 g para o bioensaio.

MÉTODO

Para a extração e determinação química da toxina foi utilizado o método preconizado por BATES & RAPOPORT^{3, 4} e, para o bioensaio, foram usados os métodos da APHA¹ e da AOAC².

a) Preparo da coluna de troca iônica

Foi utilizada uma coluna de polipropileno*, empacotada com 2 ml de resina de troca iônica (Bio-Rex 70, 50-100 mesh) previamente equilibrada com solução-tampão de acetato de sódio 0,2 M e pH 5,0.

A resina foi preparada com sucessivas lavagens com água, solução de ácido clorídrico, hidróxido de sódio, água e finalmente com vários volumes de solução de ácido acético 0,2 M, acertando o pH a 5,0 com ácido clorídrico. A seguir, lavou-se com solução-tampão de acetato de sódio 0,2 M e pH 5,0. A resina foi então estocada nesta solução-tampão³.

b) Procedimento analítico da amostra

Para o método químico, foi feita a extração e oxidação da toxina, observada a fluorescência do composto formado. Para o bioensaio, foi feita a inoculação do extrato final em camundongos. Baseou-se na seguinte sequência: a 2,0 g de amostra moída e homogeneizada adicionar 2,0 ml de ácido tricloroacético 0,5 M, misturar e aquecer a 85-90 °C, por 10 minutos. Misturar novamente por 5 a 10 minutos. Esfriar em banho de gelo a 20 °C. Adicionar 0,2 ml de solução de hidróxido de sódio a 10% com agitação até pH 5,0-5,5. Centrifugar durante 10 minutos. Transferir o sobrenadante para a coluna de troca iônica, previamente equilibrada. Eluir a coluna com 30 ml de solução-tampão de acetato de sódio 0,2 M, pH 5,0, e com 25 ml de água e 1,0 ml de solução de ácido clorídrico 0,5 M. Descartar os eluentes. Eluir a coluna com 4,0 ml de solução de ácido clorídrico

* Coluna de polipropileno (10 mm diam. int. x 50 mm), equipada com filtro plástico e reservatório.

0,5 M, coletar o eluente e dividir em 2 porções iguais. Numa destas porções fazer o bioensaio com injeções intraperitoneais em camundongos. Na outra porção restante, proceder à análise química, subdividindo-a novamente em 2 porções; a uma destas, adicionar 2,0 ml de solução de hidróxido de sódio 1,2 M e 0,05 ml de água, misturar e centrifugar; este será o branco utilizado no espectrofluorímetro Perkin-Elmer 204-A 0333). À outra porção restante, adicionar 2,0 ml de solução de hidróxido de sódio 1,2 M e 0,5 ml de água oxigenada a 10%. Misturar e centrifugar. Transferir o sobrenadante para cubetas do espectrofluorímetro e, 40 minutos após a adição da água oxigenada, acertar o pH com ácido acético glacial (aproximadamente 0,15 ml). Observar a fluorescência do composto formado.

c) *Bioensaio*

Foi realizado em alíquota retirada a partir de outra porção da amostra, com 100 g de material homogeneizado e triturado, à qual se adicionaram 100 ml de ácido clorídrico 0,1 N, acertando-se o pH a 3. Quando necessário, o pH era ajustado da seguinte maneira: aquecer a mistura durante 5 minutos, esfriar a baixa temperatura e acertar

o pH entre 2 a 4 (nunca maior que 4,5). Diluir até 200 ml. Centrifugar. Inocular o sobrenadante limpo em camundongos, intraperitonealmente, observar a reação do animal para verificação da ocorrência do óbito por intoxicação. Proceder da mesma maneira com o padrão da saxitoxina em condições apropriadas.

RESULTADO E CONCLUSÃO

A toxina paralisante dos moluscos (saxitoxina) não foi detectada nos peixes e moluscos analisados. A mortalidade dos peixes pode ter tido outra causa, não estando relacionada com o fenômeno "maré-vermelha". Isto não significa a inexistência de organismos produtores e veiculadores da toxina no nosso ambiente. No entanto, estes fatos não excluem a necessidade de manutenção da vigilância sanitária das praias e dos produtos marinhos.

Agradecimento

Agradecemos à Sra. Ofelina Felix Roberto, pelo auxílio prestado na elaboração deste trabalho.

RIALA6/614

LAMARDO, L.C.A.; GELLI, D.S. & SABINO, M. — Search for paralytic shellfish poison in fish. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):87-90, 1986.

ABSTRACT: The paralytic shellfish poison was searched in samples of oysters, shellfishes and fishes caught in various beaches of São Paulo state's shore. Two analytical procedures, one chemical and a bioassay, were employed. Red spots in water and dead fishes appeared in August to September, 1983. This was suspicious of "red tide" occurrence. It was not detected toxin by the performance of the two methods. The results are considered significant, because it was used a saxitoxin standard for control of the tests.

DESCRIPTORS: paralytic shellfish poison in fish, determination; saxitoxin, determination in oysters, shellfishes and fishes; fluorimetric method, bioassay.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION — *Recommended procedures of the examination of sea water and shellfish*. 4thed. New York, N.Y., APHA, 1970. p. 57-66.
2. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS — *Official methods of the Association of Official analytical chemists*. 12thed. Washington, D.C., AOAC, 1975. p. 319-21. [itens 18.070-18.076]
3. BATES, H.A.; KOSTRIKEN, R. & RAPOPORT, H. — A chemical assay for saxitoxin improvements and modifications. *J. agric. Food Chem.*, 26:252-4, 1978.
4. BATES, H.A. & RAPOPORT, H. — A chemical assay of saxitoxin, the paralytic shellfish poison. *J. agric. Food Chem.*, 23: 237-9, 1975.
5. BORDNER, J.; THIESSAN, W.E.; BATES, H.A. & RAPOPORT, H. — The structure of a crystalline derivative of saxitoxin. The structure of saxitoxin. *J. am. chem. Soc.*, 97:6008-12, 1975.

6. CHU, F.S. & FAN, T.S.L. — Indirect enzyme immunosorbent assay of saxitoxin in shellfish. *J. Assoc. off. anal. Chem.*, 68:13-16, 1985.
7. DAVISON, P. & MEDINA, D. — Control de la toxina paralitica de los moluscos en el Uruguay. *Higiene alim.*, São Paulo, 3: 38-43, 1984.
8. DEWBERRY, E.B. — *Food poisoning. Food-born infection and intoxications nature, history, and causation, measures for prevention and control.* 4th ed. London, Leonard Hill, 1959. p. 274-8.
9. HALSTEAD, B.W. & SCHANTZ, E.J. — *Paralytic shellfish poisoning.* Geneva, World Health Organization, 1984. 60 p. (WHO offset publ. n.º 79)
10. HUGHES, J.M. & MERSON, M.H. — Fish and shellfish poisoning. *New Engl. J. Med.*, 295:1117-20, 1976.
11. INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS) — *Aquatic (marine and freshwater) biotoxins.* Geneva, WHO, 1984. p. 9-13; 29-41. (Environmental Health Criteria 37)
12. KAO, C.Y. — Pharmacology of tetrodotoxin and saxitoxin. *Fed. Proc.*, 31:1117-23, 1972.
13. KAO, C.Y. & NISHIYAMA, A. — Actions of saxitoxin on peripheral neuromuscular systems. *J. Physiol.*, 180:50-66, 1965.
14. McFARREN, E.F. — Report on collaborative studies of the bioassay for paralytic shellfish poison. *J. Assoc. off. anal. Chem.*, 42:263-71, 1959.
15. McFARREN, E.F.; SCHANTZ, E.J.; CAMPBELL, J.E. & LEWIS, K.H. — Chemical determination of paralytic shellfish poison in clams. *J. Assoc. off. anal. Chem.*, 41:168-77, 1958.
16. McFARREN, E.F.; SCHANTZ, E.J.; CAMPBELL, J.E. & LEWIS, K.H. — A modified Jaffe test for determination of paralytic shellfish poison. *J. Assoc. off. anal. Chem.*, 42:399-404, 1959.
17. MEYER, K.F.; SOMMER, H. & SCHOEHNHOLZ, P. — Mussel poisoning. *J. Prev. Med.*, 2:365-94, 1928.
18. MOLD, J.D.; BOWDEN, J.P.; STANGER, D.W.; MAURRER, J.E.; LYNCH, J.M.; WYLER, R.S.; SCHANTZ, E.J. & RIEGEL, B. — Paralytic shellfish poison. VII. Evidence for the purity of the poison isolated from toxic clams and mussels. *J. am. chem. Soc.*, 79:5235-8, 1957.
19. POPKISS, M.E.E.; HORSTMAN, D.A. & HARPUR, D. — Paralytic shellfish poisoning: a report of 17 cases in Cape Town. *Shouth afr. med. J.*, 55:1017-1023, 1979.
20. RIEGEL, B.; STANGER, D.W.; WIKHOLM, D.M.; MOLD, J.D. & SOMMER, H. — Paralytic shellfish poison. V. The primary source of the poison, the marine plankton organism, *Gonyaulax catenella.* *J. biol. Chem.*, 177:7-11, 1949.
21. SCHANTZ, E.J.; LYNCH, J.M.; VAYVADA, G.; MATSUMOTO, K. & RAPOPORT, H. — The purification and characterization of the poison produced by *Gonyaulax catenella* in axenic culture. *Biochemistry*, 5: 1191-5, 1966.
22. SCHANTZ, E.J.; McFARREN, E.F.; SCHAFER, M.L. & LEWIS, K.H. — Purified shellfish poison for bioassay standardization. *J. Assoc. off. anal. Chem.*, 41:160-8, 1958.
23. SCHANTZ, E.J.; MOLD, J.D.; STANGER, D.W.; SHAVEL, J.; RIEL, F.J.; BOWDEN, J.P.; LYNCH, J.M.; WYLER, R.S.; RIEGEL, B. & SOMMER, H. — Paralytic shellfish poison. VI. A procedure for the isolation and purification of the poison from toxic clam and mussel tissues. *J. amer. chem. Soc.*, 79:5230-5, 1957.
24. SOMMER, H. & MEYER, K.F. — Paralytic shellfish poisoning. *Arch. Pathol.*, 24: 560-98, 1937.
25. SOMMER, H.; WHEDON, W.F.; KOFOID, C.A. & STOHLER, R. — Relation of paralytic shellfish poison to certain plankton organisms of the genus *Gonyaulax.* *Arch. Pathol.*, 24:537-59, 1937.
26. SULLIVAN, J.J. & IWAOKA, W.T. — High pressure liquid chromatographic determination of toxins associated with paralytic shellfish poisoning. *J. Assoc. off. anal. Chem.*, 66:297-303, 1983.
27. WATTS, J.S.; REILLY, J.; COSTA, F.M. & KROP, S. — Acute toxicity of paralytic shellfish poison in rats of different ages. *Toxicol. appl. Pharmacol.*, 8:286-94, 1966.
28. WIBERG, G.S. & STEPHENSON, N.R. — Toxicologic studies on paralytic shellfish poison. *Toxicol. appl. Pharmacol.*, 2:607-15, 1960.

ASSOCIAÇÃO DE SULFAMETOXAZOL E TRIMETOPRIM: AVALIAÇÃO EM DIFERENTES FORMAS FARMACÊUTICAS *

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

RIALA6/615

CHAVES, M.A.; AKATUKA, A.S. & AURICCHIO, M.T. — Associação de sulfametoxazol e trimetoprim: avaliação em diferentes formas farmacêuticas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):91-93, 1986.

RESUMO: Foram realizadas determinações de sulfametoxazol e trimetoprim em 172 amostras de medicamentos na forma de comprimidos, suspensões para adultos e de uso pediátrico, provenientes do comércio em sua maioria. Foram empregados métodos oficiais e métodos adaptados em nosso laboratório. Verificou-se que quantidade significativa desses medicamentos está fora das especificações, quanto aos teores indicados nas respectivas fórmulas.

DESCRITORES: medicamentos, determinação de sulfametoxazol e trimetoprim em.

INTRODUÇÃO

Com o advento do uso dos antibióticos, quer isolados, quer associados, tudo levava a crer que os quimioterápicos tinham sido relegados a plano secundário. Não foi entretanto o que aconteceu com a associação de trimetoprim com sulfametoxazol, de uso universal e com muito bom conceito médico.

A descoberta das sulfas deu-se quase que simultaneamente na Alemanha, com a síntese da sulfacrisoidina e, na França, com a sulfanilamida, cerca de dez anos antes da seqüência de descobertas dos antibióticos. Contudo, foi na Inglaterra que se introduziu a sulfapiridina, com o nome comercial de Dagenan, com espectro de ação maior do que o de todas as sulfas conhecidas até então⁴. A partir daí foram sintetizados centenas de derivados, entre eles a 4-amino-N-(5-metil-3-isoxazolil) benzosulfonamida ou sulfametoxazol⁵.

O mecanismo de ação do sulfametoxazol baseia-se no antagonismo metabólico, atuando no sistema enzimático da síntese do ácido folínico³, essencial para o crescimento das

bactérias. Age *in vitro* e *in vivo* contra bactérias Gram-positivas.

O 5-(3,4,5-trimetoxifenil) metil-2,4-pirimidinodiamina⁵ ou trimetoprim, derivado da diaminopirimidina, tem atividade sobre os anaeróbios *Escherichia coli*, *Neisseria*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Proteus*³.

Devido à ação sinérgica do trimetoprim com as sulfonamidas, este foi associado ao sulfametoxazol. A dose usual é na proporção de 5:1 de sulfametoxazol^{4,3}, e tem indicação no combate às infecções geniturinárias e às do trato respiratório inferior e superior.

Por volta de 1975, aproximadamente, foram lançados no mercado, por vários laboratórios, muitos produtos farmacêuticos à base da associação de sulfametoxazol e trimetoprim. Trata-se, portanto de um tipo de medicamento de grande consumo, resultando daí a grande quantidade de similares, à disposição do público, que são comercializados nas farmácias com e sem indicação médica, motivo pelo qual realizou-se uma avaliação da qualidade destes produtos disponíveis no mercado.

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 172 amostras de medicamentos à base de sulfametoxazol e trimetoprim, produzidos por 28 laboratórios da Capital e de outras cidades do Estado de São Paulo. Estas amostras foram colhidas ao acaso pelo Centro de Vigilância Sanitária do Estado de São Paulo, que as remeteu ao Instituto Adolfo Lutz para análise fiscal e de orientação, a seguir discriminadas:

90 amostras de comprimidos, aqui indicadas pela letra C

20 amostras de suspensão oral para adulto, aqui indicadas pelas letras SA

62 amostras de suspensão oral infantil, aqui indicadas pelas letras SI

As dosagens especificadas nas fórmulas foram respectivamente:

C — 400 mg de sulfametoxazol + 80 mg de trimetoprim

SA — 400 mg de sulfametoxazol + 80 mg de trimetoprim

SI — 200 mg de sulfametoxazol + 40 mg de trimetoprim

Para dosagem do sulfametoxazol foi empregado o método do doseamento pelo nitrito de sódio — diazotização à temperatura inferior a 15 °C, usando como indicador externo o papel de amido iodetado para detecção do ponto final da reação. A confirmação dos resultados obtidos por este método, no caso das amostras em desacordo com as especificações da fórmula, foi realizada pelo método do doseamento em meio não-aquoso pelo etóxido de

sódio e pelo método espectrofotométrico, na região do visível, após reação com N-naftiletilenodiamina, segundo técnica descrita na Farmacopéia Britânica ¹.

Com relação ao trimetoprim, foi empregado o método do doseamento em meio não-aquoso, com ácido perclórico, após extração com clorofórmio em meio alcalino. A confirmação dos resultados obtidos, analogamente ao caso da sulfametoxazol, foi realizada por espectrofotometria na região do ultravioleta, segundo técnica descrita na Farmacopéia Britânica ¹.

RESULTADOS

Foram analisadas 172 amostras de medicamentos à base de sulfametoxazol e trimetoprim associados.

Noventa amostras apresentavam-se sob a forma de comprimidos. Destas, 14 amostras estavam com os teores de sulfametoxazol ou de trimetoprim, ou de ambos, abaixo das especificações da fórmula, sendo que em seis destas últimas o trimetoprim não foi detectado.

Quanto à forma de suspensão para adultos, 20 amostras analisadas, duas apresentaram-se insatisfatórias quanto aos teores de sulfametoxazol e trimetoprim.

Na forma de suspensão de uso pediátrico, representada por 62 amostras, foram reprovadas três amostras, sendo que em duas destas não foi detectado o trimetoprim.

Os índices de reprovação das amostras analisadas podem ser observados na tabela a seguir.

TABELA

Avaliação dos teores de sulfametoxazol e trimetoprim nas diversas formas farmacêuticas provenientes do comércio

Tipos de amostras analisadas	Amostras analisadas	Amostras em desacordo com a fórmula			
		Sulfametoxazol	Trimetoprim	Sulfametoxazol e Trimetoprim	Total
		n.º (%)	n.º (%)	n.º (%)	n.º (%)
Comprimidos	90	3 (3,33)	2 (2,22)	9 (10,00)	14 (15,55)
Suspensão (adultos)	20	— —	— —	2 (10,00)	2 (10,00)
Suspensão (uso pediátrico)	62	— —	— —	3 (4,84)	3 (4,84)

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Considerando a importância do medicamento, que é utilizado em grande escala, a porcentagem de amostras em desacordo com a fórmula, isto é, com doses inferiores às empregadas, foi considerável. Estas doses, além da ineficiência terapêutica, podem promover o desenvolvimento da resistência dos microrganismos, impedindo a obtenção do efeito desejado, mesmo quando as dosagens corretas passam a ser administradas^{4, 3}, posteriormente.

As amostras analisadas, em desacordo com a fórmula, além dos baixos teores dos princípios ativos, não apresentam, em nenhum

caso, a manutenção da relação 5:1 entre as doses de sulfametoxazol e trimetoprim, que é essencial para a eficácia desta associação^{4, 3}.

Contrariando o resultado esperado, o índice de reprovação nas amostras em forma de comprimidos, considerado mais estável, foi maior do que nas amostras em forma de suspensão^{4, 3}.

Os resultados obtidos sugerem que os baixos teores encontrados não foram causados por decomposição dos princípios ativos (as amostras analisadas estavam dentro do prazo de validade) e sim pela má farmacotécnica do fabricante, indicando a falta de controle de qualidade do produto acabado.

RIALA6/615

CHAVES, M.A.; AKATUKA, A.S. & AURICCHIO, M.T. — Association of sulphamethoxazole and trimethoprim: determination in various pharmaceutical products. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):91-93, 1986.

ABSTRACT: Sulphamethoxazole and trimethoprim were determined in 172 samples of pharmaceutical products. The samples were in tablet or suspension form for adult and child use and were collected in drugstores from São Paulo City. Official methods as well as adapted procedures were employed. It was found that an average of 10% of the samples showed content lower than that claimed in their formulas.

DESCRIPTORS: pharmaceuticals, sulphamethoxazole and trimethoprim, determination in.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRITISH pharmacopoeia. London, Her Majesty's Stationery Off., 1973. p. 128, 451, 484.
2. FARMACOPÉIA brasileira. 3.^a ed. S. Paulo, Andrei, 1977. p. 714-5.
3. GOODMAN, L.S. & GILMAN, A.G. — *The pharmacological basis of therapeutics*. 5th ed. New York, MacMillan, 1975. p. 1113-8.
4. MARDONES, J. — *Farmacología*. 2.^a ed. Santiago, Intermédica, 1979. p. 653-8.
5. The MERCK Index. 9th ed. Rahway, Merck, 1976. p. 8709, 9377.

Recebido para publicação em 20 de outubro de 1986.

ENCEFALITE PELO VÍRUS ROCIO *

Oscar de Souza LOPES **

RIALA6/616

LOPES, O.S. — Encefalite pelo vírus Rocio — *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):
95-101, 1986.

RESUMO: São descritos os achados obtidos pela Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes durante os estudos sobre a epidemia de encefalite ocasionada por um arbovírus, o Rocio, do grupo Flavivírus, novo para a ciência e que significou a emergência de nova doença humana para a região Sul do Brasil, compreendendo os municípios de Peruibe, Itanhaém, Mongaguá e outros do Vale do Ribeira, no Estado de São Paulo, em 1975. Descreve as características da área endêmica, os métodos virológicos utilizados, a caracterização do agente etiológico, seus aspectos epidemiológicos e observações a respeito dos ciclos enzootico e epizootico do vírus.

DESCRITORES: vírus Rocio; encefalite pelo vírus Rocio.

INTRODUÇÃO

Em abril de 1975, uma equipe de funcionários da Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes do Instituto Adolfo Lutz visitou os municípios de Peruibe, Itanhaém e Mongaguá, no litoral Sul do Estado de São Paulo, onde, por informação de médicos da Superintendência do Desenvolvimento do Litoral Paulista (SUDELPA), São Paulo, estariam ocorrendo, entre os habitantes, casos de moléstia aguda do sistema nervoso central. A doença, caracterizada como encefalite, era clinicamente distinta da meningite meningocócica.

Esta encefalite, cujo quadro clínico foi descrito por TIRIBA et alii¹⁷, foi causada por um arbovírus, do grupo dos flavivírus, novo para a ciência e que foi denominado de vírus Rocio e, por ser desconhecida pela população local, significou a emergência de nova moléstia humana para esta região do Brasil.

O objetivo deste trabalho é descrever os achados obtidos pela Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes durante os estudos sobre a epidemia que atingiu aqueles municípios e depois o Vale do Rio Ribeira.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área epidêmica: Esta área de 1.000 km² sadiu-se a 24°05' S e 46°37' O e compreen-

deu os municípios de Peruibe, Itanhaém e Mongaguá. O acidente geográfico de maior relevo é a Serra do Mar que, nesta região, tem uma altitude de cerca de 800 metros e delimita regiões sedimentares, planas, situadas praticamente ao nível do mar. O índice pluviométrico é alto (cerca de 3.000 mm por ano) e a umidade relativa também é alta, sendo que a temperatura média anual oscila ao redor dos 20 °C com temperaturas extremas no verão ou no inverno.

A região é cortada por estradas de ferro e de rodagem que correm paralelas ao mar e a grande maioria dos casos de encefalite ocorreu entre as estradas e a Serra do Mar.

Viologia: As tentativas de isolamento do vírus foram realizadas por inoculação intracerebral em camundongos albinos de 1-2 dias de idade, criados pelo Biotério do Instituto Adolfo Lutz.

As famílias de animais inoculados eram observadas por 14 dias e de qualquer animal, que apresentasse sinais de doença, o cérebro era colhido e uma suspensão a 10% era inoculada em outras famílias de camundongos.

Habitantes locais, pacientes ou contatos, foram sangrados por punção venosa e o sangue, obtido sem anticoagulantes, era enviado ao laboratório para separação e posteriores exames sorológicos. Aliquotas de

* Realizado na Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, São Paulo.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

cerca de 1 ml colhidas de pacientes na fase aguda foram conservadas em nitrogênio líquido até serem transportadas para o laboratório onde foram conservadas em congelador a -60° até o momento de inoculação para as tentativas de isolamento.

Amostras de órgãos de pacientes que faleceram de encefalite foram obtidas através do Hospital Emílio Ribas e, durante o auge do surto epidêmico, a Secretaria da Saúde colocou uma equipe para a coleta de amostras de cérebro de pacientes que haviam falecido com o diagnóstico clínico de encefalite.

Assim que era recebida uma comunicação de óbito, deslocava-se um técnico para a coleta, sendo os materiais colhidos conservados em nitrogênio líquido até o transporte ao laboratório.

Mosquitos foram coletados por meio de isca humana ou armadilhas luminosas tipo CDC¹⁴ e por barraca de Shannon¹³. Os espécimes coletados eram mortos e conservados em nitrogênio líquido para transporte. No laboratório foram conservados em congelador elétrico a -60 °C até o momento de serem separados por espécies, e lotes das diversas espécies foram inoculados em camundongos ou em sistemas celulares⁹. Aves e morcegos foram coletados por intermédio de redes especiais. As aves foram sangradas na veia jugular a fim de fornecer material para as

tentativas de isolamento de vírus, e para sorologia. Os morcegos foram sacrificados e algumas vísceras (fígado, coração e rim) foram utilizadas para isolamento de vírus e o sangue obtido, para as diversas provas sorológicas. Os pequenos mamíferos foram capturados por armadilhas de arame e processados como os morcegos. As peles dos mamíferos e morcegos foram preparadas para as determinações taxonômicas necessárias.

As provas sorológicas utilizadas durante este estudo foram as de inibição de hemaglutinação, fixação do complemento e neutralização, de acordo com as técnicas descritas por CASALS².

RESULTADOS

Isolamento de vírus: O vírus Rocio foi isolado a partir de fragmentos de cérebro coletados de paciente residente no município de Iguape e que faleceu no Hospital Emílio Ribas em 8 de dezembro de 1976, no 3.º dia da doença⁴; outras amostras foram isoladas de pacientes que faleceram com até 5 dias de doença. De três pacientes que faleceram mais tarde, o vírus não pôde ser recuperado (tabela 1). Não houve isolamento a partir do sangue coletado na fase epidêmica da doença, apesar de terem sido inoculadas 142 amostras.

TABELA 1

Isolamento do vírus Rocio a partir de autópsias efetuadas em 18 pacientes com encefalite no Estado de São Paulo, em 1975-1976

Paciente n.º	Idade (anos) sexo	Dia da morte após o início dos sintomas	Isolamento do vírus	Sorologia
1	18 M	23	—	+
2	41 M	12	—	+
3	33 F	48	—	+
4	38 M	40	—	+
5	40 F	63	—	+
6	39 M	3	+	NR
7	54 M	2	+	(+)
8	? M	3	—	(+)
9	45 M	...	+	—
10	3 F	...	+	—
11	19 F	...	—	(+)
12	9 M	2	+	(+)
13	2 F	1	+	NR
14	60 M	1	+	(+)
15	65 M	2	+	(+)
16	38 F	...	—	—
17	47 M	4	+	(+)
18	5 M	5	+	(+)

+ Conversão sorológica para o vírus Rocio.

(+) Presença de anticorpos para o vírus Rocio em uma única amostra de sangue.

— Anticorpos para flavivirus ausentes.

NR Não-realizado.

(...) Dado desconhecido.

Dos materiais coletados no campo, o vírus Rocio foi isolado a partir de uma ave, *Zonotrichia capensis*, coletada em Cananéia⁶ e de um lote de mosquitos *Psorophora ferox* também coletado em Cananéia⁷. Este vírus foi considerado novo para a ciência e, portanto, distinto de todos os flavivírus conhecidos até então⁴.

Dados sorológicos: A população local, sem apresentar sintomas, mostrava uma prevalência de cerca de 26% de anticorpos para os flavivírus isolados no Brasil, ou seja, os vírus Bussuquana, Ilhéus, Encefalite de St. Louis e Febre Amarela e que poderiam estar circulando na região (tabela 2). Com os soros pares colhidos de pacientes na fase aguda e na convalescença, verificou-se que a maior parte apresentou conversão sorológica para o vírus Rocio (tabela 3). Durante a epidemia

que atingiu Peruíbe, Itanhaém e Mongaguá, equipes da Divisão Especial de Saúde do Vale do Ribeira — DEVALE fizeram um inquérito casa a casa a fim de determinar a população sob risco, as características das habitações, o número de pessoas doentes em cada domicílio etc. Da compilação destes dados, verificou-se que a maior parte dos pacientes era do sexo masculino e pertencia à faixa etária dos 15 aos 30 anos de idade (tabela 4), que o índice de ataque era muito alto (tabela 5) para as pessoas vivendo na área sob risco e que as profissões mais atingidas eram as de trabalhadores braçais (tabela 6).

Em relação aos animais silvestres, a tabela 7 mostra que uma série grande apresentava anticorpos para o vírus Rocio, em especial as aves.

TABELA 2

Inquérito sorológico, utilizando antígenos de alguns flavivírus, realizado em habitantes do município de Peruíbe, São Paulo, 1975

	Antígenos											
	Febre amarela			Bussuquara			Ilhéus			SLE		
	+	total	%	+	total	%	+	total	%	+	total	%
Soros humanos	34	150	23	5	56	9	39	150	26	39	150	26

SLE = Vírus de encefalite de São Luís.

TABELA 3

Resultados das provas de inibição da hemaglutinação e de fixação do complemento realizadas em soros pares de pacientes com encefalite, no Estado de São Paulo, 1975

N.º de soros pares	Soros negativos		Soros inconclusivos		Conversões sorológicas		Superinfecções	
	n.º	%	n.º	%	n.º	%	n.º	%
230	14	6,1	21	9,1	132	57,5	63	27,4

Negativos = ausência de anticorpos para vírus Rocio.

Inconclusivos = sem alteração no título de anticorpos.

Conversões = elevação do título de 4 casas ou mais para vírus Rocio.

Superinfecções = título alto, estável para flavivírus, incluído vírus Rocio.

TABELA 4

Índice de ataque de encefalite humana em relação a sexo e idade na área de Peruíbe e Itanhaém, São Paulo, 1975

Idade (anos)	Casos				Relação H/M	População sob risco		
	Homens		Mulheres			Homens	Mulheres	H/M
	n.º	IA	n.º	IA				
0 — 15	70	27	60	23	1,1	1.526	1.391	1,1
16 — 30	125	82	34	24	3,4	2.592	2.545	1,0
> 30	95	53	48	31	2,0	1.784	1.541	1,1
Total	290	49	142	26	2,0	5.902	5.476	1,0

População sob risco, calculada em inquérito, casa a casa.

IA = índice de ataque por 1.000 habitantes.

H/M = Homem/Mulher.

TABELA 5

Índice de ataque de encefalite epidêmica humana na área de Peruíbe, Itanhaém, São Paulo, 1975

Município	N.º de casos	População local	IA	População sob risco	IA
Peruíbe	217	9.075	24	4.889	44
Itanhaém	215	19.988	11	6.489	33
Total	432	29.063	15	11.378	38

Mongaguá notificou 33 casos que não foram incluídos.

IA = índice de ataque calculado por 1.000 habitantes.

População local: estimada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística para 1975.

População sob risco: calculada por inquérito, realizado casa a casa.

TABELA 6

Profissões de 217 pacientes com encefalite no Município de Peruíbe, São Paulo, 1975

Profissão	N.º	%
Crianças e estudantes	68	31,5
Trabalhadores braçais	56	25,9
Préncias domésticas	42	19,5
Pedreiros	29	13,4
Outras	22	9,7
Total	217	100,0

TABELA 7

Resultados de provas de inibição de hemaglutinação com antígenos de flavivírus em soros de animais silvestres e domésticos, coletados em áreas epidêmicas de encefalite, São Paulo, 1975

Animais	Total de soros	Soros positivos	
		n.º	%
Pássaros silvestres	153	37	24,2
Roedores silvestres	22	07	31,8
Marsupiais	05	03	60,0
Morcegos	55	06	10,9
Aves domésticas			
Galinhas	96	07	7,3
Patos	04	01	25,0
Pombos	07	02	28,5
Animais domésticos			
Porcos	08	—	—
Cães	04	—	—

COMENTÁRIOS

A ocorrência de casos humanos de doença aguda no sistema nervoso central, clinicamente distinta da meningite meningocócica, foi observada a partir de abril de 1975 nos municípios de Peruibe, Itanhaém e Mongaguá, no litoral Sul do Estado de São Paulo. O quadro clínico de encefalite causada pelo vírus Rocio foi descrito por TIRIBA et alii¹⁷; aspectos anatomopatológicos foram relatados por ROSEMBERG¹², e a replicação em cérebro de camundongos recém-nascidos, através de microscopia eletrônica, por TANAKA et alii¹⁵.

A Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes do Instituto Adolfo Lutz iniciou os trabalhos sobre esta epidemia e inicialmente alguns fatos chamaram a atenção. Havia absoluto desconhecimento da população local para com esta doença e, se atentarmos para o fato de que havia uma alta mortalidade entre os doentes (cerca de 30%), surtos anteriores seriam lembrados com facilidade.

Além disso não havia, entre a população estudada, pessoas com seqüelas que, mais tarde, seriam reconhecidas facilmente pelos sinais de liberação extrapiramidal. Estes dados evidenciavam que estávamos enfrentando um novo agente de doença, pelo menos para a região atacada.

O primeiro dado significativo foi o da grande prevalência de anticorpos para os flavivírus entre a população normal (tabela 3), o que sugeriu que havia uma transmissão ativa de vírus deste grupo. Inquéritos sorológicos efetuados por O.S. LOPES et alii*, em São Paulo, em 1975, e por PINHEIRO et

alii¹¹, no Rio de Janeiro, no mesmo ano, mostravam que o índice de anticorpos para flavivírus estaria ao redor de 5%. Alguns flavivírus, como os da encefalite Japonesa, da encefalite do Vale do Murray e o da encefalite de São Luís¹, agentes etiológicos de surtos de encefalite epidêmica, cujos quadros clínicos são semelhantes aos observados na região de Peruibe, sendo que o vírus da encefalite de São Luís havia sido isolado por nós em região próxima⁵. Outro dado importante para ser juntado aos obtidos até aquela data (1975) seria o exame dos soros provenientes dos municípios vizinhos. Assim, funcionários da SUDELPA coletaram 20 soros das cidade de Iguape, Registro, Sete Barras e Cananéia e nenhum destes apresentava anticorpos para o vírus Rocio*. Todos estes quatro municípios seriam atingidos em 1976 pela epidemia de encefalite.

O esclarecimento final a respeito do agente etiológico seria proporcionado pelo isolamento do vírus responsável e posterior estudo sorológico dos soros pares colhidos dos pacientes durante o surto. O vírus Rocio foi isolado a partir de fragmentos de cérebro de pacientes que faleceram até 6 dias de doença, e apenas da base do cérebro, não tendo sido isolado do córtex nem de outros órgãos como baço, fígado, rim etc.

Todavia, não houve isolamento do vírus de pacientes que faleceram com mais de 10 dias de evolução, mostrando que o período curto de 6 dias do início da doença ao óbito era essencial para evidenciar a presença do vírus no tecido cerebral.

Uma vez isolado o vírus Rocio, verificou-se que a grande maioria dos pacientes convertia

* LOPES, O.S.; SACCHETTA, L.A. & COIMBRA, T.L.M. — Inquéritos sorológicos. Dados não-publicados.

sorologicamente para este vírus, de acordo com os resultados das três provas estudadas (tabela 3).

Estes dois fatos, o isolamento do vírus a partir do cérebro de pacientes com encefalite e a conversão sorológica dos pacientes convalescentes, demonstraram que o vírus Rocio era o agente etiológico da epidemia.

Do ponto de vista epidemiológico, não se conseguiu evidenciar a existência de transmissão homem a homem do vírus Rocio, porque 75% dos casos foram únicos no domicílio e, onde ocorreu mais de um caso no domicílio, não houve uma diferença constante no aparecimento dos casos. Pelos dados obtidos se pode concluir que a transmissão acontecia fora do domicílio e durante o dia (tabelas 4 e 6).

O vírus Rocio, então, se comportou epidemiologicamente como o vírus da febre amarela em sua forma silvestre¹⁶, pois homens adultos, trabalhadores braçais, foram os mais atingidos durante a epidemia (tabela 4). O vetor deste surto epidêmico não foi bem determinado. O isolamento de amostra de vírus de um lote de *Psorophora ferox*¹³ mostrou que este inseto, que é de hábitos diurnos e silvestres, não freqüentando o domicílio, poderia ser um dos mosquitos vetores. Trabalhos experimentais concluíram que o vírus Rocio é capaz de replicar em diversas espécies de mosquitos criados em laboratório⁸ e estes dados indicam linhas de trabalho a serem seguidas se novas epidemias ocorrerem.

O isolamento de amostra do vírus Rocio de ave silvestre⁶, a presença de anticorpos em número apreciável em espécimes coletados durante o surto epidêmico e trabalhos experimentais, que mostraram que o vírus Rocio é capaz de produzir altos títulos virêmicos em aves^{8, 10}, sugerem que este vírus é mantido em natureza em ciclo envolvendo aves e mosquitos, sendo que a caracterização deste ciclo necessitará informações adicionais a serem obtidas futuramente.

A epidemia de encefalite humana causada pelo vírus Rocio teve seu último caso clínico descrito em junho de 1976 e, daquela data até o momento em que este trabalho está sendo escrito (1985), nenhum novo surto ou caso foi relatado. Este comportamento, isto é, o desaparecimento da atividade enzoótica ou epizootica é um comportamento freqüente entre os arbovírus, em especial os flavivírus como os vírus de encefalites do vírus SLE e Murray Valley, nos Estados Unidos e Austrália³. Este tipo de comportamento em que, a um período de transmissão viral (quando um determinado arbovírus pode ser isolado de diversas fontes ou sua presença é marcada por anticorpos presentes no sangue de animais silvestres), segue-se um período de quiescência, também tem sido observado em outras arboviroses estudadas pela Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes, como é o caso do vírus da encefalite equina Leste, Tacaiúma, Bertioga, Guaratuba etc. (LOPES et alii — *Inquéritos sorológicos*. Não publicado.) Devido a estes fatores todos e conhecido o fato de que o vírus Rocio é o agente etiológico da moléstia humana grave, o Instituto Adolfo Lutz, através da Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes, estabeleceu um sistema de vigilância epidemiológica baseado na pesquisa de anticorpos em sangue de aves silvestres capturadas na região epidêmica e no estudo sorológico de pacientes que tenham quadro clínico compatível com o descrito para a encefalite por vírus Rocio e que estejam internados nos hospitais locais. Esta vigilância visa, principalmente, oferecer dados à Saúde Pública para que esta possa agir eficientemente no caso de futuras epidemias.

Finalizando, a Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes estudou a emergência de um arbovírus novo para a ciência e que causou um surto epidêmico de encefalite humana a qual se constituiu em nova doença humana para a região. Os trabalhos desta região permitiram o isolamento e caracterização de agente etiológico, seus aspectos epidemiológicos e observações a respeito dos ciclos enzoótico e epizootico deste vírus, além de estabelecer um sistema de vigilância epidemiológica.

RIALA6/616

LOPES, O.S. — Rocio virus encephalitis — *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2): 95-101, 1986.

ABSTRACT: The findings made during an epidemic due to Rocio virus (*Flaviviridae*) are described. The new virus was found, in 1975, in the counties of Peruibe, Itanhaém and Mongaguá, located in the Vale do Ribeira, state of São Paulo, Brazil. Characteristics of endemic areas, virus isolation and identification methods, epidemiological aspects and some findings regarding the enzootic and epizootic cycles of the virus are described.

DESCRIPTORS: Rocio virus; encephalitis by Rocio virus.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BERGE, T.O., ed. — *International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates*. 2nd ed. Bethesda, Maryland, U.S. Dept. of Health, Education, and Welfare, 1975. 789 p. (DHEW Publ. no. CDC 75-8301).
2. CASALS, J. — Immunological techniques for animal viruses. In: MARAMOROSCH, K. & KOPROWSKI, H., ed. — *Methods in virology*. New York, Academic Press, 1967. v. 3, p. 175-181.
3. CLARKE, D.H. & CASALS, J. — Arboviruses; group B. In: HORSFALL, F.L. & TAMM, I., ed. — *Viral and rickettsial infections of man*. 4th ed., 2nd print. Philadelphia, Lippincott, 1965. p. 606-58.
4. LOPES, O.S.; COIMBRA, T.L.M.; SACCHETTA, L.A. & CALISHER, C.H. — Emergence of a new arbovirus disease in Brazil. I. Isolation and characterization of etiologic agent, Rocio virus. *Am. J. Epidemiol.*, 108:444-9, 1978.
5. LOPES, O.S.; SACCHETTA, L.A.; COIMBRA, T.L.M. & PEREIRA, L.E. — Isolation of St. Louis encephalitis virus in South Brazil. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 28:583-5, 1979.
6. LOPES, O.S.; SACCHETTA, L.A.; COIMBRA, T.L.M.; PINTO, G.H. & GLASSER, C.M. — Emergence of a new arbovirus disease in Brazil. II. Epidemiological studies on 1975 epidemic. *Am. J. Epidemiol.*, 108:394-401, 1978.
7. LOPES, O.S.; SACCHETTA, L.A.; FRANCY, B.B.; JAKOB, W.C. & CALISHER, C.H. — Emergence of a new arbovirus disease in Brazil. III. Isolation of Rocio virus from *Psorophora ferox* (Humbolt 1819). *Am. J. Epidemiol.*, 108:122-5, 1978.
8. MITCHEL, C.J.; MONATH, T.H. & CROPP, C.B. — Experimental transmission of Rocio virus by mosquitoes. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 30:465-72, 1981.
9. MONATH, T. — Togaviruses, Bunyaviruses and Colorado tick fever virus. In: *MANUAL of clinical immunology*, edited by Noel R. Rose & Herman Friedman. Washington, D.C., American Society for Microbiology, 1976. p. 456-62.
10. MONATH, T.H.; VEMP, C.E.; CROPP, C.B. & BOWEN, G.S. — Experimental infection of house sparrows (*Passer domesticus*) with Rocio virus. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 27:1251-4, 1978.
11. PINHEIRO, F.A.; BENSABATH, G.; SCHATSMAIR, H. et alii — Aobovirus studies in children of rural Guanabara, Brazil. *Intervirology*, 5:93-6, 1975.
12. ROSEMBERG, S. — Neuropathological study of a new viral encephalitis. The encephalitis of São Paulo sea coast (preliminary report). *Rev. Inst. Med. trop., S. Paulo*, 19:280-2, 1977.
13. SHANNON, R.C. — The environment and behaviour of some Brazilian mosquitoes. *Proc. entomol. Soc. Wash.*, 33(1):1-27, 1931.
14. SUDIA, W.D. & CHAMBERLAIN, R.W. — *Collection and processing of medically important arthropods for arbovirus isolation*. Atlanta, Georgia, U.S. Department of Health, Education, and Welfare, National Communicable Disease Center, 1967. 29 p.
15. TANAKA, H.; WEIGL, D.R. & LOPES, O.S. — The replication of Rocio virus in brain tissue of suckling mice. Study by a electron microscopy. *Arch. Virol.*, 78:309-14, 1983.
16. TAYLOR, R.M. — Epidemiology. In: STRODE, G.K. — *Yellow fever*. New York, McGraw Hill, 1951. p. 165-228.
17. TIRIBA, A.C.; MIZIARA, A.M.; LORENÇO, R.; COSTA, C.R.B.; COSTA, C.S. & PINTO, G.H. — Encefalite humana primária, epidêmica por arbovírus observado no litoral Sul do Estado de São Paulo. *Rev. Assoc. Méd. bras.*, 22:415-20, 1976.

Recebido para publicação em 25 de outubro de 1986.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS PRODUTOR DE TERMONUCLEASE EM ALIMENTOS *

Dilma Scala GELII **
Maria Conceição MARTINS **

RIALA6/617

GELII, D.S. & MARTINS, M.C. — *Staphylococcus aureus* produtor de termonuclease em alimentos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):103-109, 1986.

RESUMO: Foram testadas, quanto à produção de desoxirribonuclease (DNase) e termonuclease (TNase), 382 cepas de *Staphylococcus aureus*, isoladas de 205 amostras de alimentos, separadas em grupos como segue: grupo a, 236 cepas isoladas de 158 amostras de alimentos não-causadores de enfermidades e, grupo b, 146 cepas isoladas de 47 amostras de alimentos recebidas para elucidação do agente causador de intoxicação alimentar, com sintomas clínicos nos afetados compatíveis aos causados pela enterotoxina estafilocócica. Considerando os resultados obtidos, no caso do grupo a, observou-se a presença de cepa não-produtora de DNase e TNase em amostra de macarrão e cepas produtoras de DNase mas não de TNase provenientes de leite em pó e bife frito, não sendo portanto 100% concordantes os resultados referentes à produção de DNase e TNase; no grupo b, verificou-se que todas as cepas demonstraram produção de DNase e TNase.

DESCRITORES: *Staphylococcus aureus* em alimento, termonuclease.

INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus é uma bactéria que pode ocorrer na flora da pele e mucosa do homem e de outros animais de sangue quente, ou como agente de processos infecciosos¹. Sua presença em alimentos é devida à manipulação e/ou processamento inadequado(s). Muitas cepas de *S. aureus*, ao se multiplicarem, produzem e liberam enterotoxina estafilocócica^{5, 11}, que é causa de intoxicações alimentares que afetam o homem, gatos jovens e primatas^{4, 22, 27}. Surto epidêmicos de enfermidades transmitidas por alimentos a ela atribuídos quase sempre ocorrem quando a quantidade de enterotoxina no alimento ultrapassa o limite de resistência do consumidor, desencadeando os sintomas da doença: vômito, diarreia, ânsia, calafrios, dores abdominais, prostração e, raramente, febre^{3, 4, 5, 10, 12, 15, 22, 23}.

Segundo o "Center for Disease Control", a enfermidade causada por esta enterotoxina, nos Estados Unidos, em 1982, foi responsável por 12,7% de todas as doenças transmitidas por alimentos, incluindo-se as de origem bacteriana, química, parasitária e viral¹³.

A multiplicação do *S. aureus* e a produção e liberação de enterotoxina por cepas produtoras estão associadas¹¹. Se o número de unidade formadora de colônias (u.f.c.) desta bactéria por g (ml) do produto for pequeno, pode tratar-se de contaminação recente ou de produto que apresenta características inadequadas para a sua multiplicação. Em condições favoráveis, verifica-se que a presença de *S. aureus* ao redor de 10^5 u.f.c./g (ml) do produto está associada à liberação de enterotoxina em quantidade capaz de afetar o consumidor, desde que a cepa em questão seja capaz de produzi-la.

As enterotoxinas estafilocócicas^{3, 4, 5, 8}, designadas pelas letras A, B, C, D e E²⁸,

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

** Do Instituto Adolfo Lutz.

podem ser detectadas a partir do alimento, porém, as antienterotoxinas não estão disponíveis facilmente em nosso meio, seja pelo custo elevado, ou pela escassez e raridade. Os animais sensíveis a esta toxina, macacos e gatos jovens^{4, 22, 27}, também não são fáceis de ser adquiridos e/ou mantidos em laboratório. Entretanto, as enterotoxinas não são os únicos metabólitos que podem ser extraídos do substrato onde o *S. aureus* se desenvolveu. Enzimas, em especial as que atuam sobre o ácido desoxirribonucleico, como a desoxirribonuclease (DNase) e a termonuclease (TNase), também estão presentes^{2, 11, 16, 18, 21, 25, 29, 31}.

O teste de DNase é usado sistematicamente para identificação de *S. aureus*, juntamente com o teste de coagulase. Verifica-se, na rotina, a produção de coagulase; caso não seja francamente positiva, realizam-se DNase^{1, 2, 7, 28} e outros testes, como fosfatase, fermentação e oxidação da glicose e do manitol, tendo sempre por base as características morfológicas e tintoriais da bactéria^{1, 3, 9, 20, 22, 28, 30}.

Já foi estabelecido o valor da TNase para a confirmação e identificação do *S. aureus*^{1, 3, 30}. No que se refere à análise de alimentos, verificou-se que a sua detecção direta é possível quando o produto apresenta um número de células ao redor de 10^5 u.f.c./g (ml), valor este compatível com o número necessário de células para produção de enterotoxina em quantidade suficiente para desencadear doença^{11, 17, 24}. É importante ressaltar que tanto a TNase como a enterotoxina são termotáveis, permanecendo, portanto, no alimento mesmo após a destruição das células que as produziram^{14, 19, 29}.

Os critérios laboratoriais usados para confirmar qual o alimento veiculador da enterotoxina estafilocócica incluem: detecção da presença de enterotoxina no alimento, presença de um número de *S. aureus* maior ou igual a 10^5 u.f.c./g (ml) do produto e caracterização da cepa isolada quanto à produção de enterotoxina e termonuclease^{29, 21}.

A técnica de detecção da TNase é relativamente simples e barata em contraposição à da pesquisa de enterotoxina²⁹.

O presente estudo tem por finalidade a verificação da produção de TNase e DNase de cepas de *S. aureus* isoladas de alimentos e caracterizadas pelos testes de coagulase e oxidação/fermentação da glicose, além da confirmação microscópica da morfologia e coloração da bactéria. Dentre os alimentos estão incluídos os que foram considerados veiculadores de enterotoxina estafilocócica, por terem sido responsáveis por enfermidades transmitidas por alimentos com apresentação de sintomas clínicos, nos afetados, compatíveis com a síndrome por ela provocada, e os que não estavam envolvidos em surtos de enfermidades transmitidas por alimentos.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Cepas — Foram testadas 382 cepas recentemente isoladas ou mantidas sob conservação, procedentes da análise de alimentos. Estas foram separadas em grupos, sendo: *grupo a*, provenientes de amostras não-envolvidas em surtos de enfermidades transmitidas por alimentos, como segue: massas alimentícias com ou sem recheio, queijo e soro de queijo, leite, canjica, sorvete e pós para sorvete, pães e produtos de panificação, bolos, doces de confeitaria e bolachas, carnes cruas e embutidos, carnes prontas e alimentos preparados com carnes, alimentos preparados com cereais e derivados, alimentos preparados (diversos), salgadinhos e sanduíches; *grupo b*, provenientes de amostras envolvidas em surtos de enfermidades transmitidas por alimentos, com a mesma sintomatologia clínica, nos afetados, causada pela enterotoxina estafilocócica, através de bolos e doces de confeitaria, queijo, carnes prontas e pratos preparados com carnes, pratos preparados com cereais e derivados e salgadinhos. (tabelas 1 e 2.)

Amostras — Foram avaliadas no presente trabalho 205 amostras de alimentos, entre as recebidas para análise, por apresentarem u.f.c. de *S. aureus*. Constam do *grupo a*, aquelas que apresentaram número de u.f.c. inferior a 10^5 /g (ml) ou que não foram recebidas para elucidação de surtos de enfermidades transmitidas por alimentos; e, no *grupo b*, as que, além de apresentarem número de u.f.c. igual ou maior que 10^5 /g (ml), foram recebidas para elucidação do agente causador de enfermidades transmitidas por alimentos.

As amostras de alimentos foram distribuídas pela requisição do exame, como segue: 13 foram recebidas da fiscalização da alimentação pública, 47 foram solicitadas para elucidação do agente, devido a ocorrência de surtos de enfermidades transmitidas por alimentos, 18 foram enviadas para análise exigida para fins de registro do alimento junto à Divisão Nacional de Alimentos do Ministério da Saúde e 127 foram solicitadas pelo interessado para verificação da qualidade higiênico-sanitária de seus produtos.

Métodos

Isolamento de S. aureus — O isolamento foi efetuado pelas técnicas do número mais provável e da semeadura em placas³⁰. Principalmente no caso de alimento envolvido em surto de enfermidade transmitida por alimentos, foram testadas cepas isoladas das diferentes diluições.

Caracterização de S. aureus — A caracterização foi efetuada baseada na verificação microscópica e produção de catalase e coagulase, oxidação e fermentação da glicose,

TABELA 1

Valores de unidade formadora de colônias (u.f.c.) de *S. aureus* e resultados dos testes de desoxirribonuclease e de termonuclease obtidos na análise de alimentos e cepas não-envolvidos em casos de intoxicação alimentar

Amostras de alimentos analisados		Valores de u.f.c. por g (ml) do produto			Cepas de <i>S. aureus</i> testadas			
Tipo	Total	Mínimo	Máximo	Total	Teste de DNase		Teste de TNase	
					Positivas	Negativas	Positivas	Negativas
Massa alimentícia com ou sem recheio	27	0,62	7,5x10 ⁴	35	34	1	34	1 *
Queijo e soro de queijo	18	1,9	3,0x10 ⁴	31	31	0	31	0
Leite	21	0,36	3,0x10 ⁴	31	31	0	30	1 **
Canjica	2	2,4x10 ²	4,6x10 ²	3	3	0	3	0
Sorvete e pós para sorvete	5	5,5x10 ³	3,2x10 ⁴	5	5	0	5	0
Pães e produtos de panificação	6	0,9	3,0x10 ⁴	8	8	0	8	0
Bolos, doces de confeitaria	8	2,3	3,0x10 ⁴	12	12	0	12	0
Carnes cruas e embutidas	13	0,36	3,4x10 ⁵	23	23	0	23	0
Carnes prontas e alimentos preparados com carne	31	0,3	6,0x10 ⁴	51	51	0	50	1 ***
Alimentos preparados com cereais e derivados	7	9,4	3,0x10 ⁴	10	10	0	10	0
Alimentos preparados (diversos)	14	1,9	3,0x10 ⁴	21	21	0	21	0
Salgadinhos e sanduiches	6	0,94	3,0x10 ⁴	6	6	0	6	0
	158	—	—	236	235	1	233	3

* Massa seca.

** Leite em pó.

*** Contrafilé preparado (bife).

GELLI, D.S. & MARTINS, M.C. — *Staphylococcus aureus* produtor de termonuclease em alimentos. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 46 (1/2): 103-109, 1986.

TABELA 2

Valores de unidade formadora de colônias (u.f.c.) de *S. aureus* e resultados dos testes de desoxirribonuclease e de termonuclease, obtidos na análise de alimentos e cepas envolvidos em casos de intoxicação alimentar

Amostras de alimentos analisadas		Valores de u.f.c. por g (ml) do produto			Cepas de <i>S. aureus</i> testadas			
Tipo	Número	Mínimo	Máximo	Total	Teste de DNase		Teste de TNase	
					Positivas	Negativas	Positivas	Negativas
Bolos e doces de confeitaria	27	4,6x10 ⁵	3,0x10 ⁹	77	77	0	77	0
Queijo	10	2,4x10 ⁶	3,0x10 ⁸	24	24	0	24	0
Carnes prontas e alimentos preparados com carne	6	6,0x10 ⁵	3,0x10 ⁸	23	23	0	23	0
Alimentos preparados com cereais e derivados	3	1,7x10 ⁷	2,4x10 ⁷	16	16	0	16	0
Salgadinho	1	1,1x10 ⁵ *	—	1	1	0	1	0
* Valor único	47	—	—	146	146	0	146	0

conforme metodologia descrita^{3, 30}, o teste de DNase foi efetuado conforme descrito por STREITFELD et alii²⁰, o teste de TNase foi realizado pela técnica em lâmina, conforme publicação de LACHICA et alii^{16, 17, 18}, usando porém fórmula compensada para o preparo do ágar DNA, como segue: em um frasco Erlenmeyer, com 100 ml de água destilada, colocar 0,61 g de hidroximetil amino metano (TRIS) e dissolver. Ajustar o pH para 9. Adicionar 0,147 g de cloreto de cálcio anidro, 0,875 g de cloreto de sódio, 0,63 g de ágar e 1,05 g de ágar DNA, aquecer até a ebulição e adicionar 0,92 ml de solução aquosa de azul de toluidina a 1%. Distribuir 3 ml em cada lâmina. Esta fórmula mantém a concentração adequada dos componentes, apesar do uso de ágar DNA ao invés de DNA puro, que é mais oneroso e de difícil obtenção.

DISCUSSÃO

Na tabela 1, observa-se a presença de cepa não-produtora de DNase e TNase em amostras de macarrão seco, sem recheio, que sofreram tratamento térmico para a secagem, e cepas produtoras de DNase mas não de TNase provenientes de leite em pó (produto seco) e de carne preparada, no caso bife frito, na qual não foi possível determinar o seu preparo, não sendo portanto 100% concordantes os resultados referentes à produção de DNase e TNase. Estas cepas foram isoladas de alimentos não-envolvidos em intoxicações e sugerem que a relação DNase-TNase deve ser avaliada.

A tabela 2 exhibe resultados 100% positivos quanto à produção de TNase e de DNase pelas cepas isoladas de alimentos envolvidos em intoxicações.

Os testes de isolamento das cepas, a partir dos alimentos, foram feitos utilizando-se meios de enriquecimento seletivo e/ou seletivos diferenciais, respectivamente, caldo trip-tona de soja com 10% de cloreto de sódio e ágar Baird Parker ou Vogel-Johnson³⁰. Estes meios e seus agentes seletivos podem influenciar na recuperação de células bacterianas que apresentam injúrias fisiológicas por retirada de água (secagem) ou abaixamento de pH (acidulação), ou por outros métodos utilizados nos processos de transformação de alimentos. Apesar de os meios de cultura utilizados serem os recomendados para o isolamento do *S. aureus*, os mesmos, por sua natureza seletiva, podem ter interferido na recuperação de células de *S. aureus* dos produtos considerados inadequados para manter a sua viabilidade. Esta seria uma explicação para os achados da tabela 1, uma vez que as amostras de alimentos constantes da tabela 2 são de produtos favoráveis para

manutenção da viabilidade e/ou desenvolvimento desta bactéria. Deve ser considerado, neste contexto, que as cepas estavam mantidas em meios de culturas adequados, em estado de cultura pura e típica, conforme evidênciação microscópica e análise das características morfotintoriais pela coloração de Gram.

CONCLUSÃO

Está estabelecido que o teste de coagulase é definitivo na comprovação laboratorial do *S. aureus*. Atualmente, inclui-se a termonuclease para confirmação desta bactéria. TATINI et alii^{29, 31}, consideram a TNase como forte indicadora da presença de enterotoxina estafilocócica em alimentos.

No presente trabalho, observaram-se cepas produtoras de DNase e TNase responsáveis pela produção de enterotoxina estafilocócica em alimentos envolvidos em enfermidades transmitidas por alimentos. Em alimentos não-envolvidos nestes eventos, não se detectou capacidade de produção de TNase em três cepas e de DNase em uma cepa. Se analisadas as características do produto alimentício, verifica-se que a incidência de *S. aureus* DNase e TNase positivas ocorrem em produtos com atividade de água, concentração de cloreto de sódio e acidez normais.

Pelos dados obtidos no presente estudo, sugerimos que sejam realizados experimentos que permitam avaliar a incidência e/ou seleção de cepas produtoras e não-produtoras de DNase e TNase nos diversos tipos de alimentos, de acordo com o processo tecnológico de obtenção e temperatura de manutenção dos mesmos. Ainda, devem ser realizados mais levantamentos para estabelecer a correlação da presença da enterotoxina estafilocócica e da TNase, especialmente quando da ausência de células viáveis de *S. aureus* nos alimentos envolvidos em intoxicações, na tentativa de se estabelecer este critério laboratorial, de forma inequívoca, quando da elucidação destes surtos de doenças causadas por alimentos⁶.

Agradecimentos

Agradecemos às Sras. Harumi Sakuma, Marília A.A. Rossini, Miyoko Jakabi, Alice Yoshico Tanaka, Regina Cesper, Aracelis M. Freitas, Marilu M.M. Rocha, Beatriz Pisani, Marilice P. Vicente, Maria T.F. de Castro, Mítuca Kaku, Eliana G.A. Ribeiro e Marina A.S.R. Pacheco, do Instituto Adolfo Lutz, pela colaboração prestada na realização do presente trabalho. Aos Srs. Adilson Manoel Godoy e Dr. Sebastião Timo Iaria, do Instituto de Ciências Biológicas da USP, pelo fornecimento da fórmula compensada e demonstração técnica.

RIALA6/617

GELLI, D.S. & MARTINS, M.C. — Thermonuclease production by *Staphylococcus aureus* from foods. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):103-109, 1986.

SUMMARY: An analysis was made of 205 samples of foods, and of 382 strains of *Staphylococcus aureus*. The analysis included two classes of foods: a) 158 samples not involved in food-borne intoxications with 256 strains; b) 47 samples of foods involved in food-borne diseases. A strain was isolated which did not produce DNase or TNase from macaroni while powder milk and fried beef steak yielded strains which produced DNase but not TNase. So, the results of DNase and TNase were not in agreement. All strains isolated from class b samples produced both DNase and TNase.

DESCRIPTORS: *Staphylococcus aureus* in food, thermonuclease.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAIRD-PARKER, A.C. — Gram-positive cocci. In: *Bergey's Manual of determinative bacteriology*, edited by R.E. BUCHANAN & GIBBONS. 8th ed. Baltimore, Md., Williams & Wilkins, 1974. p. 484-9.
2. BARRY, A.L.; LACHICA, R.V. & ATCHISON, F.W. — Identification of *Staphylococcus aureus* by simultaneous use of tube coagulase and thermonuclease tests. *Appl. Microbiol.*, 25:496-7, 1973.
3. BENNETT, R.W. — *Staphylococcus aureus*. In: ESTADOS UNIDOS. Food and Drug Administration — *Bacteriological analytical manual*, 6th ed. Washington, A.O.A.C., 1984. p. 14.01-14.04.
4. BERGDOLL, M.S. — Staphylococcal intoxications. In: RIEMANN, H. & BRYAN, F.L. — *Foodborne infections and intoxications*. 2nd ed. New York, Academic Press, 1979. p. 443-94.
5. BERGDOLL, M.S. & BENNETT, R.W. — Staphylococcal enterotoxins. In: SPECK, M.L., ed. — *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 2nd ed. Washington, D.C., APHA, 1984. p. 428-57.
6. BISSONETTE, N.; LACHANCHE, R.A.; GOULET, J.; LANDGRAF, M.; & PARK, C.E. — Evidence of thermonuclease production by *Bacillus* sp. and enterococci in naturally contaminated cheese. *Can. J. Microbiol.*, 26:722-5, 1980.
7. BLAIR, E.B.; EMERSON, J.S. & TULL, A.H. — A new medium, salt mannitol plasma agar, for the isolation of *Staphylococcus aureus*. *Am. J. Clin. Pathol.*, 47: 30-9, 1967.
8. CASMAN, E.P. — Staphylococcal food poisoning. *Health Lab. Sci*; 4:199-206, 1967.
9. CHAPMAN, G.H., BEREN, C.; PETERS, A. & CURCIO, L. — Coagulase and hemolysin tests as measures of the pathogenicity of staphylococci. *J. Bacteriol.*, 28: 343-63, 1934.
10. CHRISTIE, A.B. & CHRISTIE, M.C. — *Food hygiene and food hazards*. 2nd ed. London, Faber and Faber, 1977. p. 32-7; 54-5; 260-3.
11. CORDS, B.R. & TATINI, S.R. — Applicability of heat-stable deoxyribonuclease assay for assessment of staphylococcal growth and the likely presence of enterotoxin in cheese. *J. Dairy Sci.*, 56:1512-9, 1973.
12. EIROA, M.N.U. — O controle de qualidade dos alimentos. *Bol. Inst. Tecnol. Aliment.*, 49:1-32, 1977.
13. FOODBORNE disease outbreaks. Annual summary, 1982. *MMWR CDC Surveill Summ.*, 35(1SS): 11SS, 1986.
14. HACKLER, J.F. — Outbreak of staphylococcus milk poisoning in pasteurized milk. *Am. J. Pub. Health*, 29:1247-9, 1939.
15. HOBBS, B.C. — *Food poisoning and food hygiene*. 3rd ed. London, Edward Arnold, 1974. p. 22-4; 32-4; 53-4; 106-7.
16. LACHICA, R.V.F.; GENIGEORGIS, C. & HOEPRICH, P.D. Metachromatic agar-diffusion methods for detecting staphylococcal nuclease activity. *Appl. Microbiol.*, 21:585-7, 1971.
17. LACHICA, R.V.F.; HOEPRICH, P.D. & GENIGEORGIS, C. — Metachromatic agar-diffusion microslide technique for detecting staphylococcal nuclease in foods. *Appl. Microbiol.* 23:168-9, 1972.
18. LACHICA, R.V.F.; HOEPRICH, P.D. & GENIGEORGIS, C. — Nuclease production and lysostaphin susceptibility of *Staphylococcus aureus* and other catalase-positive cocci. *Appl. Microbiol.*, 21: 823-6, 1971.

19. LEE, W.H.; STAPLES, C.L. & OLSON, J.C., JR. — *Staphylococcus aureus* growth and survival in macaroni dough and the persistence of enterotoxins in the dried products. *J. Food Sci.*, 40:119-20, 1975.
20. LEITÃO, M.F.F. — Métodos para a caracterização de *Staphylococcus aureus* enteropatógeno. *Bol. Inst. Tecnol. Aliment.*, 36:21-46, 1973.
21. MENZIES, R.E. — Comparison of coagulase, deoxyribonuclease (DNase) and heat-stable nuclease for identification of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Pathol.*, 30:606-8, 1977.
22. MINOR, T.E. & MARTH, E.H. — *Staphylococci and their significance in foods*. Amsterdam, Elsevier, 1976. p. 297.
23. ORGANIZAÇÃO PAN AMERICANA DE SAÚDE — *Controle das doenças transmissíveis no homem*. 13.^a ed. Washington, D.C., OPAS, 1973. p. 208-13 (Publ. Científica 442).
24. PARK, C.E.; DEREA, H.B. & RAYMAN, M.K. — Evaluation of staphylococcal thermonuclease (TNase) assay as a mean of screening foods for growth of *Staphylococci* and possible enterotoxin production. *Can. J. Microbiol.* 24:1335-9, 1978.
25. PARK, C.E.; SERRANO, A.M.; LANDGRAF, M.; HUANG, J.C.; STANKIEWICZ, Z. & RAYMAN, M.K. — A survey of microorganisms for thermonuclease production. *Can. J. Microbiol.*, 26:532-3, 1980.
26. STREITFELD, M.M., HOFFMANN, E.M. & JANKLOW, H.M. — Evaluation of extracellular deoxyribonuclease activity in pseudomonas. *J. Bacteriol.*, 84:77-80, 1962.
27. SLOCUM, G.G. & LINDEN, B.A. — Food poisoning due to *Staphylococci*. *Am. J. Publ. Health*, 29:1326-30, 1939.
28. SPERBER, W.H. & TATINI, S.R. — Interpretation of the tube coagulase test for identification of *Staphylococcus aureus*. *Appl. Microbiol.*, 29:502-5, 1975.
29. TATINI, S.R.; CORDS, B.R. & GRAMOLI, J. — Screening for staphylococcal enterotoxins in food. *Food Technol.*, 30:64-74, 1976.
30. TATINI, S.R.; HOOVER, D.G. & LACHICA, R.V.F. — Methods for the isolation and enumeration of *Staphylococcus aureus*. In: SPECK, M.L. ed. — *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 2nded. Washington, D.C., APHA, 1984. p. 411-27.
31. TATINI, S.R.; SOO, H.M.; CORDS, B.R. & BENNETT, R.W. — Heatstable nuclease for assessment of staphylococcal growth and likely presence of enterotoxins in foods. *J. Food Sci.*, 40:352-6, 1975.

Recebido para publicação em 29 de outubro de 1986.

SARDINHAS INTEIRAS, SALGADAS E PRENSADAS:
CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS, ESTADO
DE CONSERVAÇÃO E VALOR NUTRITIVO *

Neusa Vitória Valério SILVEIRA **
Claydes de Quadros ZAMBONI **
Miyoko JAKABI **
Thereza Yalue ANRAKU **

RIALA6/618

SILVEIRA, N.V.V.; ZAMBONI, C.Q.; JAKABI, M. & ANRAKU, T.Y. — Sardinhas inteiras, salgadas e prensadas: condições higiênico-sanitárias, estado de conservação e valor nutritivo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):111-116, 1986.

RESUMO: Foram analisadas 62 amostras de sardinhas inteiras, salgadas e prensadas, coletadas e industrializadas nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Santa Catarina e Paraná. Para a verificação das condições higiênico-sanitárias e do estado de conservação do produto final, foram efetuadas análises microbiológica, microscópica e química. A avaliação do valor nutritivo das sardinhas foi efetuada através da determinação de sua composição centesimal. O exame microbiológico demonstrou que 96,77% das amostras analisadas estavam satisfatórias para o consumo, e somente 3,23% apresentavam leveduras acima do limite permitido pela legislação brasileira. Não foram encontrados insetos, ovos ou larvas de insetos, ácaros e nematóides. Os resultados das reações de Eber, para amoníaco, e de gás sulfídrico executadas nestas amostras coincidiram com os dos exames microbiológicos. Com base neste estudo, os autores sugerem revisão na legislação brasileira vigente referente a este tipo de alimento.

DESCRIPTORIOS: sardinha (*Sardinella aurita*) inteira, salgada e prensada, controle de qualidade.

INTRODUÇÃO

Há mais de cinquenta anos é praticada no Brasil a salga de pescado inteiro, em especial a sardinha, peixe de pequeno porte que se alimenta somente de plâncton³. Entretanto, pela legislação brasileira em vigor relativa a este tipo de alimento, tal processo não é permitido, sendo exigida a evisceração antes da salga e prensagem^{3, 4}.

A evisceração dificulta o processo industrial. O aproveitamento integral das sardinhas, considerando a existência de variação não-previsível de quantidades muito elevadas, mesmo dentro da estação de alta captura, exige quadros estáveis e permanentes de mão-

-de-obra e, ainda, estocagem frigorífica, resultando em produto mais caro. O custo final deste produto é importante porque o alimento tem boa aceitação e é largamente consumido nas regiões Norte e Nordeste do País, onde o poder aquisitivo é bem menor.

A ampla insistência das indústrias pesqueiras junto aos órgãos governamentais responsáveis pelo cumprimento da legislação, visando evitar que continue sendo dada ao pescado destinação menos nobre que alimentação, fundamenta-se no fato de que grandes quantidades de pescado capturados não podem ser aproveitados por causa das limitações existentes.

* Realizado na Divisão de Bromatologia e Química do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP. Apresentado no 9.º Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Curitiba, 1986.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

A finalidade deste trabalho foi verificar se eram satisfatórias as condições higiênico-sanitárias, a qualidade e o valor nutritivo das sardinhas inteiras, salgadas e prensadas, capturadas e industrializadas nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Santa Catarina e Paraná, e se o seu consumo poderia acarretar prejuízo à saúde pública.

MATERIAL E MÉTODO

Foram analisadas 62 amostras de sardinha inteira, salgada e prensada, adquiridas em diversos pontos do comércio dos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná e Santa Catarina, representativas do alimento que normalmente é oferecido à população. Estas amostras foram submetidas aos exames microbiológico, microscópico e físico-químico.

O estado de conservação das sardinhas submetidas à análise foi verificado através de exames microbiológico e físico-químico. O exame microscópico foi efetuado para a verificação da existência de parasitos, ácaros, fungos leveduriformes e filariformes.

Exame microbiológico

O preparo das amostras para análise, a contagem de microrganismos mesófilos em ágar-padrão, a determinação de *Bacillus cereus* em ágar-Mossel, *Staphylococcus aureus* em ágar-Vogel-Johnson, *Clostridium perfringens* em ágar-sulfito-polimixina-sulfadiazina e a determinação de bolores e leveduras em ágar-dextrose-batata acidificado foram realizadas segundo metodologia descrita pela APHA¹.

A pesquisa de coliformes totais foi feita pela técnica do número mais provável (NMP). Foi utilizada série de três tubos com caldo lauril-sulfato onde foram semeadas alíquotas de 10, 1, 0,1 ml da amostra da diluição 10⁻¹ e incubados a 35 °C, durante 24-48 horas. Os tubos que apresentaram reação positiva para a fermentação da lactose foram semeados pela técnica de estrias em placa de ágar-eosina-azul de metileno, segundo Levine. Após incubação a 35 °C, durante 24 horas, as colônias típicas que se desenvolveram foram isoladas em meio pressuntivo para identificação de enterobactérias, usando meio IAL¹² e lactose, segundo Hiss. A pesquisa de coliformes fecais foi feita utilizando meio caldo bile-verde-brilhante, incubado a 45 °C, durante 24-48 horas, em banho-maria. A confirmação e identificação foi efetuada em meios ágar-eosina-azul de metileno, IAL e lactose.

A pesquisa de *Salmonella* foi realizada em 25 g da amostra, homogeneizada em liquidificador com 225 ml de água peptonada, tampoadas (meio de pré-enriquecimento) e

incubada a 35 °C, durante 24-48 horas. Para enriquecimento seletivo foram transferidos 2 ml deste caldo para um tubo de ensaio com 20 ml de caldo tetracionato, segundo Kaufman e outros 2 ml para tubo com 20 ml de caldo selenito-cistina. Estes dois tubos foram incubados a 42 °C. Após 24 e 48 horas, os tubos foram semeados em superfícies de ágar-*Salmonella shigella* e em ágar-verde brilhante, por estrias, e incubados a 35 °C, durante 24 horas. Após a incubação foram isoladas de 3 a 5 colônias em meio IAL. As culturas características foram testadas frente aos anti-soros polivalentes somáticos e flagelares de *Salmonella*.

Exame microscópico

Pesquisa de insetos, larvas e ovos de insetos, ácaros e nematóides — A amostra foi transferida para uma bandeja de alumínio, examinada com lupa, e o material estranho foi separado com a ajuda de um bisturi, transferindo para uma placa de Petri e examinado ao microscópio estereoscópico e ao microscópio composto, com aumento de 100 a 400 vezes, quando necessário.

Pesquisa de fungos e leveduras — Procedida a amostragem, porções suspeitas do material foram raspadas com uma espátula e montadas em solução de Lugol ou água glicerinada a 2%, entre lâmina e lamínula e, a seguir, examinadas ao microscópio composto com aumento de 100 a 400 vezes.

Exame físico-químico

A análise físico-química constou da verificação das condições de conservação pelas reações de Éber, para amônia, e de gás sulfídrico e determinação do teor das bases voláteis totais, segundo as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz¹³, e da determinação da composição centesimal da parte comestível da sardinha (umidade, cinzas, cloretos, lipídios e protídios).

RESULTADOS

Exame microbiológico — A contagem de microrganismos mesófilos e de bolores apresentou-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação para este tipo de alimento. A pesquisa de coliformes totais, coliformes fecais, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* e *Salmonella* foi negativa para todas as amostras analisadas e somente duas (3,22%) estavam em desacordo com os padrões, por apresentarem número de leveduras acima do limite tolerado pela legislação. O resultado da contagem de unidades formadoras de colônias está apresentado na tabela 1.

SILVEIRA, N.V.V.; ZAMBONI, C.Q.; JAKABI, M. & ANRAKU, T.Y. — Sardinhas inteiras salgadas e prensadas: condições higiênico-sanitárias, estado de conservação e valor nutritivo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):111-116, 1986.

TABELA 1

Leveduras em amostras de sardinha inteira, salgada e prensada

Leveduras UFC */g	Amostra de sardinha	
	N.º	%
≤ 300	60	96,78
> 300 ≤ 3.000	1	1,61
> 3000 ≤ 30.000	1	1,61

* Unidades formadoras de colônias.

Exame microscópico — A pesquisa de insetos, ovos e larvas de insetos, ácaros e nematóides foi negativa para amostras analisadas, enquanto que a presença de fungos filariformes e leveduriformes foi positiva para todas elas.

Exame físico-químico — Na verificação do estado de conservação das sardinhas anali-

sadas, as reações de Éber, para amônia, e de gás sulfídrico foram negativas em 60 amostras e levemente positivas em apenas duas. Os resultados para bases voláteis e composição centesimal dos produtos analisados estão contidos nas tabelas 2 e 3, respectivamente. Não foram encontrados valores de bases voláteis superiores a 100 mg/100 g.

TABELA 2

Bases voláteis em amostras de sardinha inteira, salgada e prensada

Amostra de sardinha		Bases voláteis
N.º	%	mg/100 g
49	79,03	1 — 60
6	9,67	61 — 70
3	4,83	71 — 80
2	3,22	81 — 90
2	3,22	91 — 100

DISCUSSÃO

Comparando os resultados obtidos nos exames microbiológico e microscópico, observamos que, das 62 amostras que apresentaram fungos leveduriformes ao exame microscópico, somente 2 revelaram leveduras superior ao limite tolerado pela legislação em vigor, ao exame microbiológico³, o que demonstra que as leveduras não estavam viáveis nas outras 60 amostras. O resultado da reação de Éber, levemente positivo em duas amostras, foi coincidente com o das que apresentaram leveduras acima do limite tolerado.

As 62 amostras que apresentaram fungos filariformes ao exame microscópico estavam

dentro do padrão microbiológico para bolores³, demonstrando que as condições higiênicas das sardinhas eram satisfatórias em relação a este parâmetro microbiológico.

Os resultados negativos para outros microrganismos pesquisados, como coliformes totais, coliformes fecais, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* e *Salmonella* eram previstos devido à alta concentração do sal na sardinha, que provoca ação desidratante sobre o alimento e microrganismos, ocorrendo plasmólise das células, e inibição do crescimento e possível morte dos microrganismos presentes^{2,7}.

SILVEIRA, N.V.V.; ZAMBONI, C.Q.; JAKABI, M. & ANRAKU, T.Y. — Sardinhas inteiras salgadas e prensadas: condições higiênico-sanitárias, estado de conservação e valor nutritivo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):111-116, 1986.

TABELA 3

Composição centesimal de amostras de sardinha inteira, salgada, prensada, não-aviscerada

Procedência	Amostra n.º	Protídios g/100 g	Lipídios g/100 g	Resíduo mineral fixo g/100 g	Cloretos em NaCl g/100 g	Substâncias voláteis (por diferença) g/100 g
SC	1	34,16	5,21	20,64	19,39	39,99
SP	2	26,79	7,32	17,48	16,57	48,41
SC	3	29,61	4,26	17,09	16,12	49,04
SP	4	29,16	6,91	17,54	16,56	46,39
SC	5	27,77	10,27	16,00	14,30	45,96
SP	6	27,33	9,59	15,92	14,74	47,16
SC	7	28,32	6,08	17,34	15,47	48,26
SP	8	32,95	8,26	16,28	13,79	42,51
SC	9	29,10	4,65	17,24	15,82	49,01
SC	10	23,37	6,39	18,47	17,69	51,77
SP	11	26,71	6,58	17,83	16,27	48,88
SP	12	28,17	9,44	16,39	15,21	46,00
SP	13	28,00	6,91	16,95	15,58	49,04
SP	14	23,49	9,23	17,34	16,23	49,94
SP	15	24,88	4,51	18,31	17,23	52,30
SP	16	27,99	2,68	17,97	16,80	51,36
SP	17	28,45	4,59	17,26	16,11	49,70
SP	18	30,31	2,03	17,61	16,50	50,05
SP	19	30,73	2,78	17,50	16,44	48,99
SC	20	30,28	1,87	18,19	16,43	49,66
SP	21	26,05	4,08	20,96	20,04	48,91
SP	22	28,27	4,52	17,53	16,16	49,68
SP	23	22,19	9,65	17,85	16,23	50,31
SP	24	25,33	7,94	17,92	16,85	48,81
SP	25	28,62	3,25	17,07	15,77	51,06
SP	26	26,55	5,13	16,96	15,31	51,36
SP	27	25,95	6,70	17,02	15,36	50,33
SP	28	29,58	4,02	16,14	14,82	50,26
PR	29	26,81	6,72	16,17	15,33	50,30
PR	30	26,62	6,03	16,73	15,40	50,62
SP	31	27,85	4,18	16,51	16,29	51,46
PR	32	26,39	8,26	16,37	14,97	48,98
PR	33	27,45	12,48	15,18	14,07	44,89
PR	34	26,23	12,06	15,24	15,00	46,37
SP	35	26,70	11,19	19,30	18,10	42,81
SP	36	29,20	11,03	14,99	13,66	44,78
SP	37	27,03	3,29	19,67	18,44	50,01
SP	38	31,05	7,23	16,28	14,36	45,44
SP	39	32,67	2,96	16,48	14,72	47,89
SP	40	30,22	4,07	16,33	15,09	49,38
SP	41	25,23	6,52	17,76	16,73	50,49
SP	42	27,00	4,53	17,94	16,74	50,53
SP	43	28,63	4,65	17,40	16,12	49,32
SP	44	29,93	4,82	17,39	16,20	47,86
SP	45	26,99	5,14	17,46	15,90	50,41
SP	46	28,69	3,35	18,27	16,70	49,69
SC	47	27,69	4,16	17,55	16,60	50,60
RJ	48	24,68	2,09	17,02	15,98	56,21
RJ	49	24,71	3,37	16,46	15,06	55,46
RJ	50	30,05	4,38	18,17	15,76	47,40
RJ	51	27,46	2,78	16,99	16,08	52,77
SP	52	27,31	2,68	15,30	14,35	54,71
SP	53	25,33	4,73	11,65	10,55	58,29
SP	54	30,03	4,61	18,24	15,88	47,12
SP	55	26,18	3,25	18,19	16,61	52,38
SP	56	28,59	3,75	18,30	17,29	49,36
SP	57	28,75	3,24	14,32	13,25	53,69
SP	58	29,95	4,37	16,73	15,48	51,05
SP	59	30,00	4,47	17,56	16,31	52,03
SP	60	26,13	3,06	15,55	14,29	55,26
SP	61	24,72	4,72	17,65	16,64	52,84
SP	62	30,85	4,39	16,73	15,46	47,94
Valor médio		29,37	4,96	16,25	15,67	48,76
Valor máximo		34,16	12,48	20,96	20,04	58,29
Valor mínimo		22,19	1,87	11,65	10,55	39,99

SC = Santa Catarina; SP = São Paulo; PR = Paraná; RJ = Rio de Janeiro.

A quantidade de cloreto de sódio inibitória para a maioria dos microrganismos está ao redor de 20%. Evidentemente, os que têm o ambiente marinho como habitat natural são halófilos tolerantes, moderados ou estritos. Além destes, alguns fungos halófilos podem desenvolver-se em concentrações de até 25%⁶, e o *S. aureus* em até 20% de cloreto de sódio. Para esta última bactéria, a produção de enterotoxina é inibida pela presença de 10 a 20% de cloreto de sódio. Os resultados da determinação de cloreto de sódio (tabela 3) permitem pressupor a possível presença destes grupos assinalados, ou seja, fungos e *S. aureus*. *Staphylococcus aureus* é uma bactéria contaminante que tem como portador mais comum o manipulador de alimentos, sendo indicador de manuseio e preparo inadequados. A ausência desta bactéria pode ser interpretada como um dos indicadores de higiene satisfatório para as amostras analisadas.

As bases voláteis podem variar em reservas de pescado, dependendo do tipo do processamento usado, da temperatura e da composição de sua carne¹⁶. Na literatura pertinente não há limite para bases voláteis em pescado salgado, seco e com vísceras. Entretanto, SCHMIDT-HEBBEL et alii¹⁴ relataram que, para pescados e carnes frescas, pode-se admitir até 30 e 20 mg/100 g, respectivamente. Nas carnes em conserva, até 60 mg/100 g, ou seja, três vezes o que seria admissível para a carne fresca. De acordo com os resultados obtidos pode-se verificar que o limite poderia, por analogia, ser estipulado em 90 mg/100 g, desde que os resultados do exame microbiológico estivessem dentro dos padrões.

Os resultados microbiológicos, microscópicos e físico-químicos obtidos encontram apoio na literatura científica consultada, em relação à ausência de risco para a saúde pública,

quanto à ingestão de sardinha salgada e prensada, processada inteira. Segundo TANIKAWA¹⁶, se o peixe for de pequeno porte não há necessidade de se remover a cabeça e vísceras para sua industrialização. Nos países onde a indústria pesqueira é altamente desenvolvida, como no Japão e no Chile, é permitido o processamento de sardinhas inteiras e, na França, segundo a "Organisation de Coopération et de Développement Économique", é corrente a utilização desta tecnologia^{5, 9, 11, 15, 16, 17}.

CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos na análise das 62 amostras de sardinha inteira salgada e prensada, pudemos verificar elevados teores de proteína (29,37%) e lipídios (4,96%), o que indica um alto valor nutritivo do produto, principalmente por se tratar de proteína de origem animal, e lipídios compostos, em grande parte, por ácidos graxos insaturados¹⁰.

Quanto às condições higiênico-sanitárias e estado de conservação, concluímos que, das amostras analisadas, somente 3,23% apresentaram leveduras acima do limite permitido pela legislação, enquanto que 96,77% das amostras apresentavam condições satisfatórias para o consumo.

Concluindo, sugerimos uma alteração na legislação pertinente para permitir o processamento de sardinhas inteiras o que seria não apenas oportuno do ponto de vista econômico, mas principalmente, de grande alcance social.

Agradecimento

A Rosângela Nogueira Lima, pela colaboração técnica na parte de análise microbiológica.

RIALA6/618

SILVEIRA, N.V.V.; ZAMBONI, C.Q.; JAKABI, M. & ANRAKU, T.Y. — Whole salted and pressed sardines: hygienic-sanitary conditions, preservation and nutritional value. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):111-116, 1986.

ABSTRACT: Whole, salted and pressed sardines which had been collected and processed in the states of São Paulo, Rio de Janeiro, Santa Catarina and Paraná comprised 62 samples which were examined in the laboratory. Verification of the hygienic-sanitary conditions and of the state of conservation were made through microbiologic, microscopic and chemical procedures. A theoretical evaluation of the nutritional value of sardines was made from their contesimal composition. Microbiological tests showed that 96.77% of the samples was satisfactory for human consumption, while only 3.23% showed yeasts above the limits permitted by the Brazilian legislation. No whole insects, insect eggs or larvae were found nor acarids or nematoids. Eber test for ammonia and the test for sulphidric gas agreed with the microbiological findings. It is suggested that a revision be made of the Brazilian laws concerned with this type of food.

DESCRIPTORS: sardine (*Sardinella aurita*), whole, salted and pressed, quality control.

SILVEIRA, N.V.V.; ZAMBONI, C.Q.; JAKABI, M. & ANRAKU, T.Y. — Sardinhas inteiras salgadas e prensadas: condições higiênico-sanitárias, estado de conservação e valor nutritivo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):111-116, 1986.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN PUBLIC ASSOCIATION. Intersociety/Agency Committee on Microbiological Methods for Foods — *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, edited by Marvin L. Speck. Washington, APHA, c1976. p. 107, 225, 387, 417, 437.
2. BOTELHO, A.T. & NORT, E. — *Pescado salgado no Brasil*. Rio de Janeiro, PNUD/FAO/MINISTÉRIO DA AGRICULTURA/SUDEPE, 1974. 40 p. (Sér. doc. técn. n.º 6).
3. BRASIL. Leis, decretos etc. — Decreto n.º 12.486, de 20 de outubro de 1978. *Diário Oficial*, São Paulo, 21 out. 1978. p. 6. (NTA 10). Aprova Normas Técnicas Especiais Relativas a Alimentos e Bebidas.
4. BRASIL. Leis, decretos etc. — Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (aprovado pelo Decreto 39.691, de 23-3-52, alterado pelo Decreto n.º 1.255, de 25-6-62). Brasília, Ministério da Agricultura, 1980. p. 78.
5. CONFÉDERATION DES INDUSTRIES DE TRAITEMENT DES PRODUITS DES PÊCHES MARITIMES — *Normes de fabrication, suivies des status de la confédération, et textes réglementaires la concernant*. 7ème ed. Paris, 1968. p. 104.
6. COSTA, A.R. — Fungos em alimentos. In: LACAZ, C.S.; MINAMI, P.S. & PURCHIO, A. — *O grande mundo dos fungos*. São Paulo, EDUSP/Polígono, 1970. p. 174.
7. JAY, J.M. — *Modern food microbiology*. New York, Van Nostrand, c1979. p. 171.
8. KIETZMANN, U.; PRIEBE, K.; RAKOW, D. & REICHSTEIN, K. — *Inspeccion veterinaria de pescados. Manual para la inspección de peces, crustáceos y moluscos como alimento*. Trad. del alemán por Carlos Bernaldo de Quirós y Fernandez. Zaragoza, Acribia, 1974. 307 p.
9. LOPEZ-MATAS, A. — *Enlatado, curado y otros metodos de preservación de pescado y elaboración de subproductos*. Chile, FAO, 1952. p. 112.
10. MONTES, A.L. — *Bromatologia*. 2.ª ed. Buenos Aires, Edit. Universitária de Buenos Aires, 1981. Tomo III, p. 64.
11. MORETTO, E. & ALVES, R.F. — *Manual de controle de qualidade para indústrias de pescados e derivados*. [Florianópolis] BROMASC, 1986. p. 55.
12. PESSOA, G.V.A. & SILVA, E.A.M. — Meios de Rugai e lisina-motilidade combinados em um só tubo para a identificação presumtiva de enterobactérias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 32:97-100, 1972.
13. SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. v. 1: *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. São Paulo, 1985. p. 14, 15, 44, 274.
14. SCHMIDT-HEBBEL, H.; AVERDAÑO, V.S.; PENHACCHIOTTI, M.I.; MASSON, S. L.; WITTING DE PENHA, E. & AMADORI, M.E. — *Avances en ciencia tecnologia de los alimentos*. Edición actualizada e ampliada. Santiago, Alfabetá (1981). p. 120.
15. SOUDAN, M. — Règlements sanitaires relatifs au poisson salé, prescriptions de base, possibilités d'harmonisation. In: ORGANISATION DE COOPERATION ET DÉVELOPPEMENT ÉCONOMIQUES — *Règlements sanitaires pour le poisson et les produits de la pêche*. Paris, OCDE, 1961. p. 144-7 (OCDE doc. 51).
16. TANIKAWA, E. — *Marine products in Japan. Size, technology and research*. Tokyo, Koseisha-Koseikaku, 1971. p. 300.
17. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA. Depto. de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias — *Salga de sardinha em salmoura. Estudo comparativo*. [Florianópolis] SUDEPE/UFSC, 1979. p. 142.

Recebido para publicação em 11 de dezembro de 1986.

ÍNDICE DE AUTOR/AUTHOR INDEX

AKATUKA, A.S., 91
ALMEIDA, M.E.W., 53
ALVES, V.A.F., 59
ALVES, W., 5
ANRAKU, T.Y., 111
AURICCHIO, M.T., 91
BADOLATO, E.S.G., 53
CAMPOS, E.P., 59
CAPARROZ, A.B., 53
CARUSO, M.S.F., 11
CHAVES, M.A., 91
CHIEFFI, P.P., 19
COLEN, G., 65
COSTA, I.B., 1
DURANTE, F., 53
FONSECA, I.E.M., 5
FRANCO, T.T., 81
GELLI, D.S., 87, 103
ICHIKAWA, A.H., 73
INOMATA, E.I., 73
JAKABI, M., 111
KUREBAYASHI, A.K., 81
LAMARDO, L.C.A., 87
LARA, W.H., 45
LICO, C.H.P., 1
LOPES, O.S., 95
MAEDA, M.Y.S., 59
MARTINS, M.C., 103
MENEZES, C.A.S., 11
MIRANDA, J.B.N., 27
NOVO, O.F., 5
PACHECO, G.R., 59
PRADO, G., 65
SABINO, M., 65, 73, 87
SANTOS, L., 1
SHIH, L.W.S., 59
SILVEIRA, N.V.V., 111
TAKAHASHI, M.Y., 11
YABIKU, H.Y., 11, 45
WALDMAN, E.A., 19, 27
ZAMBONI, C.Q., 111

ÍNDICE DE ASSUNTO

- Ácidos graxos
em leite materno, determinação
cromatografia em fase gasosa, 53
- Aflatoxina
em milho em grão, determinação, 65
- Biomphalaria straminea*
Taubaté, São Paulo, Brasil, 1
- Chlamydia* sp., 59
- Condições pré-cancerosas
doenças do colo uterino, 59
doenças da vagina, 59
- Corantes naturais
para alimentos, análise
antocianinas de casca de uva, 11
clorofilina cúprica, 11
cochonilha, 11
cúrcuma, 11
urucum, 11
vermelho de beterraba, 11
- Desinfetantes hospitalares
coeficiente fenólico e diluições de uso
compostos de amônio quaternário, 5
compostos fenólicos, 5
formaldeído, 5
hipoclorito de cálcio, 5
Irgasan DP-300, 5
- Doenças do colo uterino
infecção por *Chlamydia* sp., 59
- Doenças da vagina
infecção por *Chlamydia* sp., 59
- Encefalite
por vírus Rocio, 95
- Esfregaços vaginais, 59
- Flavonóides
da própolis, determinação
cromatografia, espectrofotometria, 81
- Laboratórios de Saúde Pública, 19, 27
- Leite materno (humano)
ácidos graxos de, determinação
cromatografia em fase gasosa, 53
- Medicamentos
sulfametoxazol, trimetoprim em,
determinação, 91
- Milho (em grão)
contaminação por micotoxinas, 65
- Muco cervical, citopatologia, 59
- Ocratoxina A
em milho em grão, determinação, 65
- Óleos essenciais, análise
de limão siciliano (*Citrus limon* Burm)
cromatografia em camada delgada, 45
cromatografia em fase gasosa, 45
de limão Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka)
cromatografia em camada delgada, 45
cromatografia em fase gasosa, 45
- Própolis
controle de qualidade
flavonóides, determinação, 81
- Sardinha (*Sardinella aurita*) inteira, salgada
e prensada
controle de qualidade, 111
- Saúde Pública
laboratórios, 19, 27
planejamento de serviços da Saúde, 19, 27
- Saxitoxina
em mariscos, ostras, peixes, determinação
bioensaio, espectrofotometria, 87
- Staphylococcus aureus*
em alimentos
termonuclease, 103
- Suco de tomate (industrializado)
análise química, 73
- Tomate (*Solanum lycopersicum*)
ácido glutâmico livre, determinação, 73
- Toxina paralisante dos moluscos
em peixe, determinação, 87
- Vírus Rocio
encefalite por, 95
- Zearalenona
em milho em grão, determinação, 65

SUBJECT INDEX

- Aflatoxin
 in corn (grain), detection, 65
- Biomphalaria straminea*
 Taubaté, São Paulo, Brazil, 1
- Cervix diseases
 Chlamydia sp. infections, 59
- Cervix mucus, citopathology, 59
- Chlamydia* sp.
- Corn (grain)
 contamination by micotoxins, 65
- Desinfectants (hospital)
 phenol coefficient and use dilution
 calcium hypochlorite, 5
 formaldehyde, 5
 Irgasan DP-300, 5
 phenol compounds, 5
 quaternary ammonium compounds, 5
- Dyes, natural
 for foods, analysis
 beet red, 11
 bija (*Bixa orellana*), 11
 cochineal, 11
 cupric chlorophyllin, 11
 grape shell anthocyanins, 11
 saffron, 11
- Encephalitis
 Rocio virus encephalitis, 95
- Essencial oils, analysis
 Sicilian lemon (*Citrus limon* Burm) oil
 gas-liquid chromatography, 45
 thin-layer chromatography, 45
 Tahiti lemon (*Citrus latifolia* Tanaka) oil
 gas-liquid chromatography, 45
 thin-layer chromatography, 45
- Fatty acids
 in mother's milk, detection
 gas-liquid chromatography, 53
- Flavonoids
 of propolis, determination
 paper chromatography, 81
 spectrophotometry, 81
- Milk (human)
 mother's milk
 fatty acids determination
 gas-liquid chromatography, 53
- Ochratoxin A
 in corn (grain), detection, 65
- Oils, essential, analysis, 45
- Paralytic shellfish poison
 in fish, determination, 87
- Pharmaceuticals
 sulphametoxazol, trimetoprim in,
 determination, 91
- Pre-cancerous conditions
 cervix diseases, 59
 vaginal diseases, 59
- Propolis
 flavonoid determination, 81
 quality control, 81
- Public Health
 health service planning, 19, 27
- Public Health laboratories, 19, 27
- Rocio virus encephalitis, 95
- Sardine (*Sardinella aurita*), whole, salted
 and pressed
 quality control, 111
- Saxitoxin
 in fishes, oysters, shellfishes, determination
 bioassay, 87
 fluorimetric method, 87
- Staphylococcus aureus*
 in foods
 thermonuclease, 103
- Tomato (*Solanum lycopersicum*)
 free glutamic acid determination, 79
- Tomato juice (industrialized)
 chemical test, 73
- Vaginal diseases
 Chlamydia sp. infection, 59
- Vaginal smears, 59
- Zearalenone
 in corn (grain), detection, 65

