

VOLUME 11

JUNHO, 1957

NÚMERO 1

ARQUIVOS
DA
FACULDADE DE HIGIENE E SAÚDE PÚBLICA
DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



SÃO PAULO

BRASIL

FACULDADE DE HIGIENE E SAÚDE PÚBLICA
DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

DIRETOR: Prof. Augusto Leopoldo Ayrosa Galvão
VICE-DIRETOR: Prof. Rodolfo dos Santos Mascarenhas

Corpo Docente

Professôres Catedráticos

Benjamim Alves Ribeiro	<i>Higiene do Trabalho</i>
Alexandre Wancolle	<i>Química Sanitária</i>
Lucas de Assumpção	<i>Microbiologia e Imunologia Aplicadas</i>
Vicente de Sampáio Lara	<i>Higiene da Criança</i>
Paulo César de Azevedo Antunes ..	<i>Parasitologia Aplicada e Higiene Rural</i>
Pedro Egídio de Oliveira Carvalho	<i>Bioestatística</i>
Francisco Antônio Cardoso	<i>Higiene Alimentar</i>
Álvaro Guimarães Filho	<i>Higiene Pré-Natal</i>
Raphael de Paula Souza	<i>Fisiologia</i>
João Alves Meira	<i>Diagnóstico das Doenças Transmissíveis</i>
Augusto Leopoldo Ayrosa Galvão ..	<i>Epidemiologia e Profilaxia Gerais e Especiais</i>
Rodolfo dos Santos Mascarenhas ..	<i>Técnica de Saúde Pública</i>
Regida pelo Livre Docente da Ca- deira, Dr. José Martins de Barros	<i>Venereologia e Leprologia (vaga)</i>

Professôres Contratados

Otacílio Pousa Sene	<i>Saneamento Geral</i>
Eduardo Riomey Yassuda	<i>Abastecimento de Águas e Sistema de Esgotos</i>
José Martiniano de Azevedo Neto	<i>Tratamento de Águas de Abastecimento e Residuárias</i>

Comissão de Biblioteca (1956-1957)

Prof. João Alves Meira
Prof. Álvaro Guimarães Filho
Prof. Vicente de Sampáio Lara

Secretário: Sebastião Pestana
Bibliotecária chefe: Elsa Pompeu de Camargo

VOLUME 11

JUNHO, 1957

NÚMERO 1

ARQUIVOS
DA
FACULDADE DE HIGIENE E SAÚDE PÚBLICA
DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



SÃO PAULO

BRASIL

C O N T E Ú D O

	<i>Páginas</i>
<i>Da inconsistência da relação entre o grau de dureza e o teor de iôdo em águas de abastecimento público</i> — Francisco Antônio Cardoso, Yaro Ribeiro Gandra e Germínio Nazário	1- 22
<i>Um foco de leishmaniose tegumentar na zona Sul de São Paulo, Brasil</i> — Oswaldo Paulo Forattini e Octávio de Oliveira	23- 34
<i>Atividades de saúde pública na zona rural, com especial referência ao Estado de São Paulo, Brasil</i> — Oswaldo Paulo Forattini e Paulo Carvalho Castro,	35- 70
<i>Algumas observações sobre uma zoonose denominada nódulo dos ordenhadores, no homem, e pseudovaríola bovina, no gado</i> — Ruy Soares Guenther Riedel, Ayrton Pinheiro de Souza e José Péricles Freire	71- 88
<i>Relatividade do significado do índice coliforme e proposição de índice corrigido</i> — Dacio de Almeida Christovão	89- 96
<i>Estudo sobre o Corynebacterium diphtheriae. I — Fermentação da sacarose por bacilos diftéricos virulentos isolados em São Paulo</i> — Dacio de Almeida Christovão	97-114
<i>Estudo sobre o Corynebacterium diphtheriae. II — Observações sobre bacilos diftéricos e difteróides isolados em São Paulo: aspecto morfológico, propriedades fermentativas, virulência e freqüência dos tipos de Corynebacterium diphtheriae encontrados</i> — Dacio de Almeida Christovão	115-134
<i>Comparação entre o caldo triptose-lauril e o caldo lactosado, na determinação do número de bactérias coliformes nas águas das praias dos municípios de Santos e São Vicente</i> — Dacio de Almeida Christovão	135-160

OS ARQUIVOS, órgão oficial da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo, são editados semestralmente sob a orientação da Comissão de Biblioteca.

Solicita-se permuta

Exchange is kindly solicited

Man bittet um Austausch

On prie l'échange

Se solicita el cange

Si prega l'intercambio

Tôda a correspondência deverá ser dirigida a :

“Arquivos da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo”, Caixa Postal, 8.099, São Paulo, Brasil.

DA INCONSISTÊNCIA DA RELAÇÃO ENTRE GRAU DE DUREZA E TEOR DE IÔDO EM ÁGUAS DE ABASTECIMENTO PÚBLICO ^o

FRANCISCO ANTÔNIO CARDOSO *

YARO RIBEIRO GANDRA **

GERMÍNIO NAZÁRIO ***

É o bócio endêmico um dos problemas de deficiência alimentar que muito tem preocupado as autoridades sanitárias.

Este interesse é plenamente justificável tendo em vista além da deformação devida ao aumento da glândula tireóide, ainda, o problema do cretinismo, o da surdo-mudez e o da debilidade mental, com tôdas as suas conseqüências, relacionados à deficiência iódica.

A evolução do bócio simples para o bócio nodular tóxico é também um outro ponto a considerar, não só pela gravidade do distúrbio em si, como também pela sua significação econômica e social, quer por motivar o afastamento do paciente de suas atividades comuns, quer pela necessidade do tratamento cirúrgico, que geralmente se impõe nesses casos.

Embora a etiologia do bócio endêmico não esteja totalmente elucidada é indiscutível que zonas cujas águas e solo são pobres em iôdo constituem aquelas em que o mal é mais disseminado. É óbvio pois o interesse que tem a dosagem do iôdo no solo, nas águas e nos alimentos em geral. O conhecimento dessa taxa poderá informar sobre os limites das zonas bocígenas, além de fornecer elementos científicos importantes para o esclarecimento dos fatores etiológicos responsáveis pela incidência e intensidade da endemia bocígena. O levantamento da riqueza iódica de uma região ainda nos proporcionará dados básicos para campanhas de fornecimento supletivo de iôdo à população carente.

Em trabalho anterior³, tivemos a oportunidade de proceder à determinação do teor de iôdo em águas de abastecimento público dos municípios do Estado de São Paulo, em muitos dos quais a endemia bocígena tem sido revelada por alguns pesquisadores. Utilizamos, para isso, a reação entre o cério IV e arsenitos quando catalizada por iodetos.

Entregue para publicação em 23-10-1957.

^o Trabalho da Cadeira de Higiene Alimentar (Prof. Francisco Antônio Cardoso) da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

* Professor catedrático.

** Livre docente e assistente da Cadeira.

*** Ex-assistente da Cadeira.

Vários autores têm sustentado que existe uma relação entre o grau de dureza das águas e o seu teor em iôdo. Este fato vem servindo de justificativa para se substituir a trabalhosa dosagem de iôdo por uma simples determinação da dureza. Com o resultado desta se estimava a riqueza de iôdo da mesma água.

Bado e Trelle¹, em 61 amostras de água, afirmam que “estabelecem ademais uma relação entre o conteúdo de iôdo e o quociente $\frac{O Na_2}{OCa + OMg}$. Quando este quociente é menor que 1 as águas carecem de iôdo.”

Salas e Amato⁹, analisando 90 amostras de água, dizem que o teor de iôdo “diminui ao aumentar a dureza da água “e que” quando o quociente entre $\frac{Na + K}{Ca + Mg}$ é menor que 1, a concentração de iôdo é menor que 5 gamas por litro”.

Murray e colaboradores⁸, em 1948, sugerem que a concentração de iôdo em águas moles, embora adequada para prevenir o bócio, pode não ser suficiente nas águas duras.

Gôngora e colaboradores⁴, em 1949, procedendo a 504 determinações de dureza de águas de consumo público da Colombia e tentando relacioná-las com o bócio endêmico, chegaram à “conclusão de que na Colombia não existe relação bem clara entre o índice de “dureza” das águas de consumo e a percentagem de bócio”. Prosseguindo dizem: “Com efeito, existe uma grande maioria de municípios com incidência de bócio simples que ultrapassa de 50%, com águas de consumo perfeitamente brandas. Mas, em troca, nos municípios com águas de consumo catalogadas como duras, ou muito duras, a incidência de bócio simples sempre é maior que 30%”.

Marsano⁷, estudando a dureza e o conteúdo de iôdo das águas de algumas localidades da Argentina, não encontrou relação nítida entre as duas medidas. Exceptuando-se algumas águas, a grande maioria era constituída por águas duras ou muito duras.

Em razão dessa divergência de opiniões existente é que, quando nos propusemos a fazer o levantamento da taxa de iôdo em águas de 369 cidades do Estado de São Paulo³ resolvemos, aproveitando o mesmo material da amostra, dosar, concomitantemente, a dureza dessas águas. Visamos com isto perquirir a existência de alguma correlação, positiva ou negativa, entre a dureza das águas e sua riqueza de iôdo; se achada esta relação, iríamos saber se sua perfeição era de tal ordem que nos permitisse estimar o valor de iôdo, quando de posse da dureza.

Material e Técnica — Em 1953, colhemos 381 amostras de águas de abastecimento público de 369 cidades do Estado de São Paulo, sedes de unidades sanitárias do Departamento de Saúde. Achamos razoável assim proceder, por-

que conseguiríamos dêste modo uma amostra homogeneamente distribuida por todo o Estado, e, mais ainda, contaríamos, na coleta da amostra, com a ajuda técnica da maioria das unidades sanitárias. Colhemos sempre amostra de águas que efetivamente fôsem consumidas pela maior parte da população. A coleta destas amostras e as análises foram realizadas no período de Janeiro a Dezembro de 1954.

Em 1955, publicamos os resultados da determinação do teor de iôdo na amostra em questão³. Depois de analisar os métodos de dosagem existentes, resolvemos adaptar à dosagem de iôdo na água, a reação cuja cinética fôra estudada por Lein e Schwartz⁶, ou seja, aquela que ocorre entre o cério IV e os arsenitos, quando catalizada por iodetos. Este método, adaptado à dosagem de iôdo na água, além de ter sensibilidade capaz de determinar 0,01 μ g de iodeto, requer pequeno volume de água e é de fácil execução.

Detalhes referentes à coleta das amostras, à preparação dos reagentes e à técnica de dosagem podem ser encontrados em nosso trabalho referido³.

A dureza total das águas foi medida pelo processo introduzido por Schwarzenbach¹⁰, em que íons de cálcio e magnésio são titulados diretamente por solução de sal di-sódico do ácido etilenodiamina-tetracético, que forma quelatos com aqueles íons. A mudança de côr do Negro de Eriocromo T, indica quando aqueles íons se tornam totalmente complexados. A técnica utilizada foi a de Betz e Noll², aplicada por Houlihan⁵, à determinação da dureza total da água.

A fim de estudarmos uma possível correlação entre a dureza das águas e o teor de iôdo, a série de valores obtida foi ordenada segundo o grau de dureza.

TABELA I — Resultados da determinação da dureza e da concentração de iôdo das águas dos abastecimentos públicos de 381 localidades do Estado de São Paulo (vide mapas I e II).

CIDADE	Dureza p p m	Iôdo μ g/litro
Indaiatuba	0,8	0,14
Conchal	0,8	0,18
Manduri	1,2	0,22
Pôrto Ferreira	1,6	0,45
Pedreira	2,0	0,55
Buritama	2,4	0,73
Guariba	2,4	0,08
Colina	2,4	1,41
Itararé	2,4	0,09
Campos do Jordão	2,4	0,15

CIDADE	Dureza p p m	Iôdo $\mu\text{g}/\text{litro}$
Itirapina	2,6	0,44
Cardoso	3,2	0,08
Batatais	3,2	0,88
Nuporanga	3,2	0,33
Novo Horizonte	3,2	0,95
Mogi Guaçú	3,2	0,26
Assis	3,2	0,38
Boituva	3,2	0,28
Altinópolis	4,0	0,25
São José da Bela Vista	4,0	0,12
Potirendaba	4,0	5,05
Araraquara — Vila Xavier (fonte)	4,0	0,23
Angatuba	4,0	0,09
Guareí	4,0	0,82
Ribeirão Branco	4,0	0,87
Araçoiaba da Serra	4,0	10,60
Piedade	4,0	1,12
São Simão	4,0	0,13
Atibáia	4,0	0,75
Sorocaba	4,4	7,24
Sarapuí	4,4	0,18
Boa Esperança do Sul	4,8	0,62
Rubiácea	4,8	0,60
Rio das Pedras	4,8	0,87
Ibiuna	4,8	0,58
Planalto	5,6	0,16
Cerquilha	5,6	0,14
Pedregulho	5,6	0,72
Brotas	5,6	0,08
Serra Azul	5,6	0,13
Caconde	5,6	2,16
Itajobi	5,6	0,79
Arthur Nogueira	5,6	0,80
Itatinga	5,6	0,24
Monteiro Lobato	5,6	1,51
Jardinópolis	6,0	0,63
Piracaia	6,0	2,17
Guaraçá	6,4	1,96
Dois Córregos	6,4	2,55
Ribeirão Bonito	6,4	0,17
Cajurú	6,4	0,36
Santa Cruz das Palmeiras	6,4	0,21

CIDADE	Dureza p p m	Iôdo $\mu\text{g/litro}$
Bilac	6,4	0,46
Regente Feijó	6,4	0,56
Apiáí	6,4	0,62
Pindamonhangaba	6,4	0,21
Lavrinhas	6,4	0,40
Sales de Oliveira	7,2	0,83
Itápolis	7,2	0,86
Casa Branca	7,2	0,38
Santa Rita do Passa Quatro	7,2	1,23
Itaí	7,2	0,22
Burí	7,2	0,37
Salesópolis	7,2	2,37
Salto	7,2	1,35
Torrinha	8,0	0,67
Tabapuã	8,0	1,06
Macatuba	8,0	0,42
Rinópolis	8,0	1,41
Paranapanema	8,0	0,89
São Paulo — Vila Deodoro	8,0	0,45
Valentim Gentil	8,0	0,16
Amparo	8,4	0,65
Silveiras	8,4	0,63
Brodosqui	8,8	0,48
Dourado	8,8	0,70
Cafelândia	8,8	0,93
Mineiros do Tietê	8,8	0,47
Paulicéia	8,8	5,05
Pres. Epitácio	8,8	1,23
Itaporanga	8,8	0,12
Itapecerica da Serra	8,8	0,80
Santana do Parnaíba	8,8	0,61
Cubatão	8,8	0,45
Itariri	8,8	1,28
Mogi das Cruzes	8,8	0,15
Guararema	8,8	3,31
Aparecida do Norte	8,8	1,63
Lorena	8,8	0,24
Queluz	8,8	0,53
São Carlos	9,2	0,76
Timburi	9,2	0,34
Mairiporã	9,2	1,85
Jaborandí	9,6	0,05

CIDADE	Dureza p p m	Iôdo µg/litro
Tabatinga	9,6	0,16
Lindóia	9,6	0,81
Jundiaí	9,6	0,74
Ubirajara	9,6	0,94
Jambeiro	9,6	1,88
Natividade da Serra	9,6	2,47
Cachoeira Paulista	9,6	0,23
Bananal	9,6	3,40
Guaira	10,0	0,19
Descalvado	10,0	4,10
Pinhal	10,4	0,56
Cordeirópolis	10,4	6,00
Echaporã	10,4	3,75
Cerqueira César	10,4	0,47
Bofete	10,4	0,35
São Vicente	10,4	1,05
Paraibuna	10,4	0,71
Caraguatatuba	10,4	2,83
Cruzeiro	10,4	0,18
Ubatuba	10,4	8,64
Bocaina	10,8	0,93
Jarinú	10,8	0,89
São Luiz do Paraitinga	10,8	1,87
Macaubal	11,2	4,45
Socorro	11,2	0,56
Franco Rocha	11,2	0,51
Martinópolis	11,2	0,58
Rancharia	11,2	0,33
Itapetininga	11,2	0,45
Joanópolis	11,2	0,09
Santa Isabel	11,2	4,29
Tatuí	11,2	1,03
Igarapava	11,2	0,72
São Joaquim da Barra	11,6	0,19
São Manoel	12,0	0,62
Terra Roxa	12,0	0,15
Pitangueiras	12,0	1,87
Limeira	12,0	1,20
Serra Negra	12,0	0,28
Cananéia	12,0	1,60
Taubaté	12,0	1,11
Ilha Bela	12,0	3,60

CIDADE	Dureza p p m	Iôdo µg/litro
Guaratinguetá	12,0	0,22
Piquete	12,0	0,12
São José do Barreiro	12,0	0,16
Leme	12,4	0,27
Lengóis Paulista	12,4	0,77
São Paulo — Mooca	12,8	0,53
São Sebastião da Gramma	12,8	2,55
Avanhandava	12,8	0,30
Capivarí	12,8	1,37
Monte Alegre do Sul	12,8	0,75
Cândido Mota	12,8	0,60
Itaberá	12,8	0,41
Nazaré Paulista	12,8	0,18
Pilar do Sul	12,8	0,84
Iguape	12,8	1,89
Redenção da Serra	12,8	1,19
Cosmorama	13,2	0,53
Jaboticabal	13,6	0,79
Guararapes	13,6	1,63
Itanhaem	13,6	0,75
Pedro de Toledo	13,6	2,12
Rifaina	13,6	0,64
Capão Bonito	14,4	0,66
Areias	14,4	1,03
Serrana	15,0	0,00
Nerculândia	15,2	0,90
Santa Branca	15,2	1,18
São Paulo — Penha	15,2	0,47
Itapuí	15,2	6,40
General Salgado	16,0	8,45
Franca	16,0	0,19
Miguelópolis	16,0	0,34
Pederneiras	16,0	3,78
Oriente	16,0	2,25
São Caetano do Sul	16,0	3,17
Iporanga	16,0	1,33
São Paulo — Vila Mariana	16,0	3,65
Álvares Florence	16,1	0,48
Poá	16,6	1,39
Guarantã	16,8	0,25
Itatiba	16,8	1,71

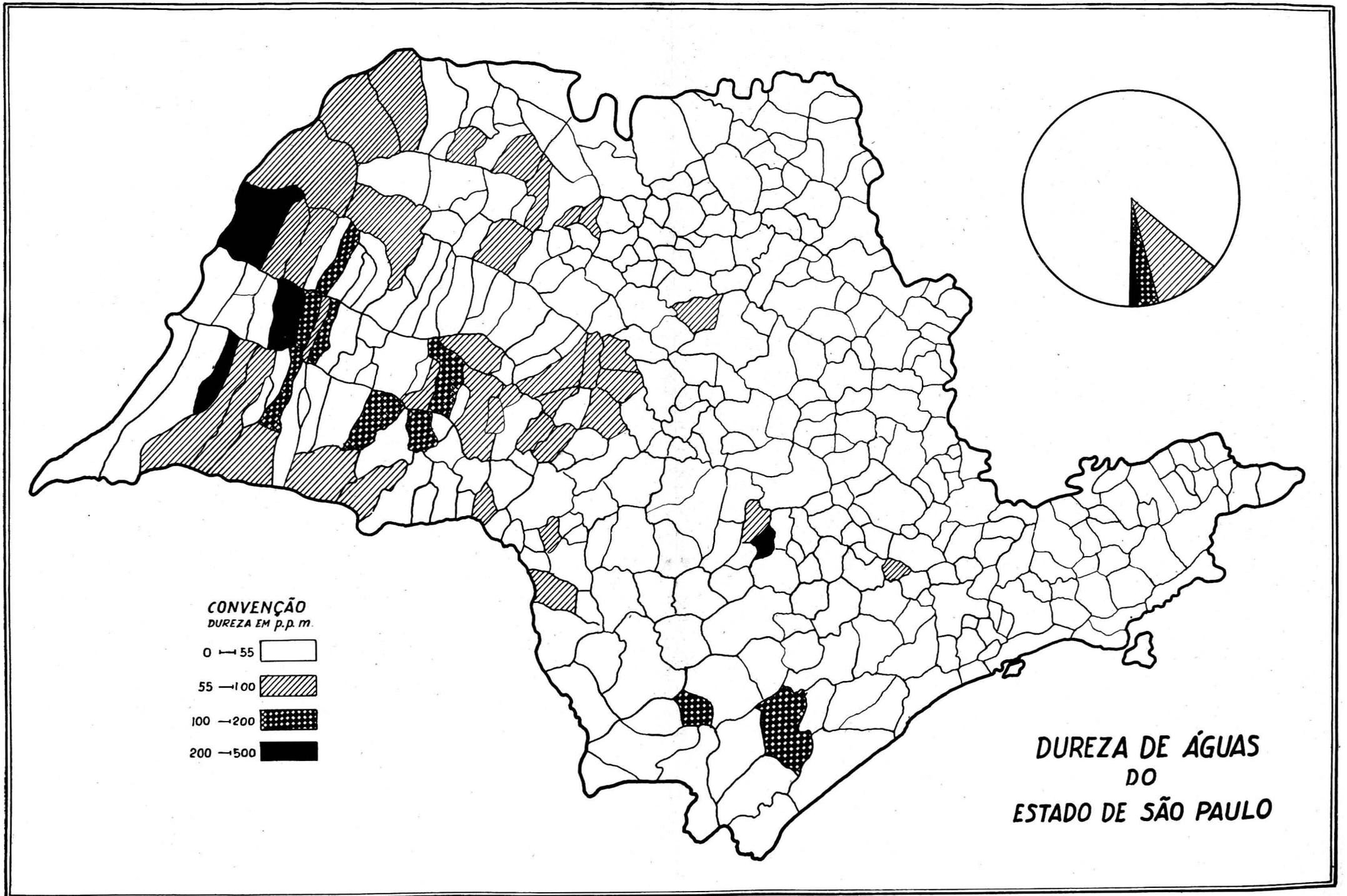
CIDADE	Dureza p p m	Iôdo $\mu\text{g/litro}$
São Pedro	16,8	1,63
Chavantes	16,8	1,23
São Bento do Sapucaí	16,8	0,39
Guarujá	17,2	3,02
Viradouro	17,6	0,58
Taquaritinga	17,6	0,91
Coroados	17,6	7,20
Avai	17,6	0,25
Parapuã	17,6	0,20
Mogi Mirim	17,6	1,07
Santa Cruz do Rio Pardo	17,6	0,29
Laranjal Paulista	17,6	2,49
Itirapuã	18,0	0,88
Corumbataí	18,0	1,43
São Paulo — Consolação	18,4	2,09
Américo de Campos	18,4	0,65
Orlândia	18,4	3,20
Cravinhos	18,4	1,31
Fernando Prestes	18,4	0,24
Ituverava	18,8	1,32
Elias Fausto	18,8	0,15
Santos	18,8	0,20
São Paulo — Sto. Amaro	19,2	2,20
Americana	19,2	2,95
Vinhedo	19,2	1,59
São João da Boa Vista	19,2	1,57
Cotia	19,2	5,04
São Paulo — Avenida	20,0	4,27
São Paulo Vila América	20,0	1,60
Ibirá	20,0	1,98
Bastos	20,0	3,35
Campinas	20,0	1,38
Araras	20,0	3,32
Ipauçú	20,0	0,73
Araraquara (reprêsa artificial)	20,0	0,39
Taquarituba	20,0	1,18
Itú	20,0	0,56
Jacareí	20,0	0,77
São Sebastião	20,0	4,65
Anhembí	20,4	2,75
Pôrto Feliz	20,4	1,47

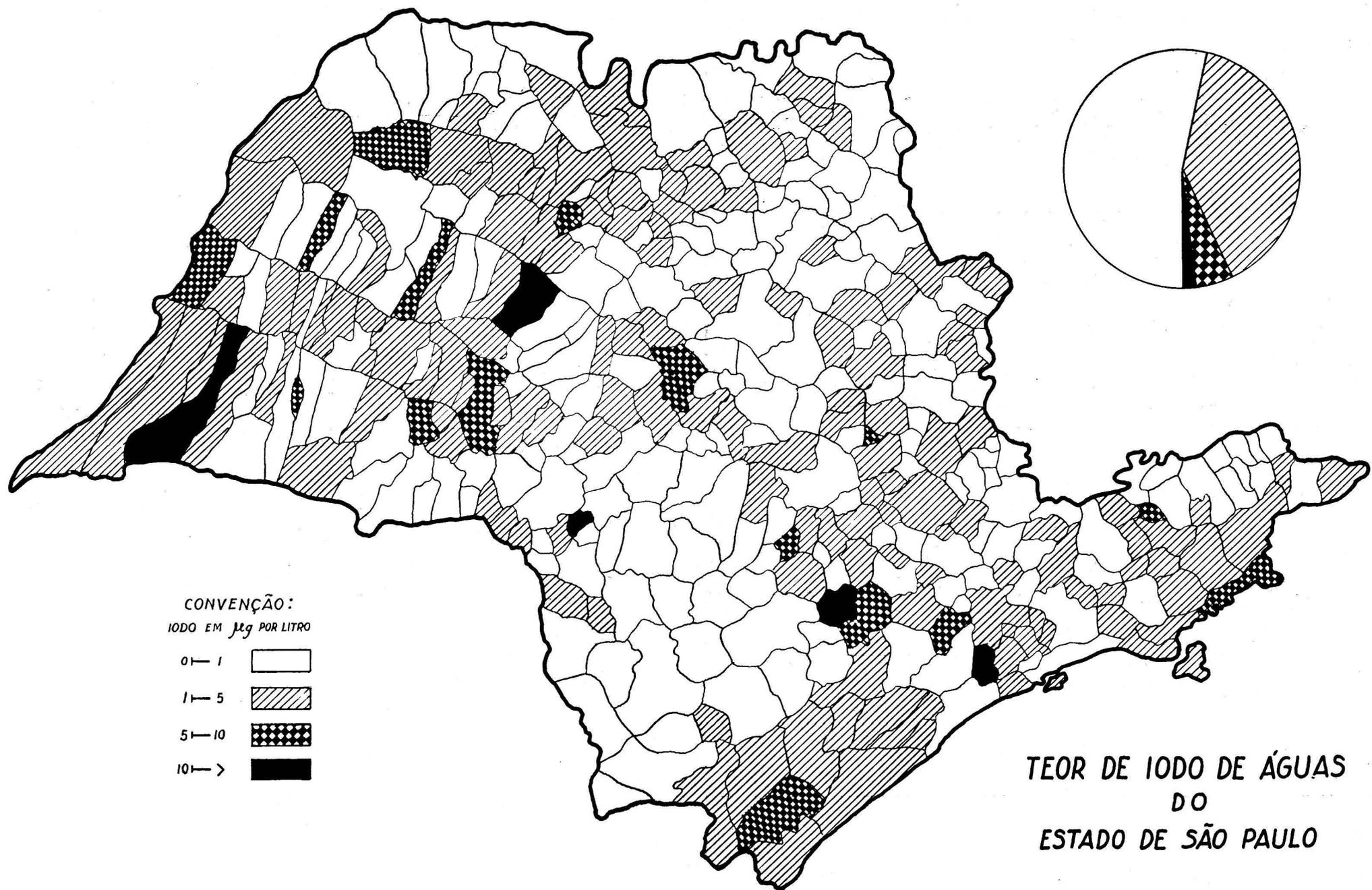
CIDADE	Dureza p p m	Iôdo µg/litro
Miracatu	20,8	4,71
São José dos Campos	20,8	0,42
Nhandeara	20,8	3,33
Tupã	21,2	3,50
São Paulo — Água Branca	21,6	18,10
Pongai	21,6	0,75
Garça	21,6	1,89
Bragança Paulista	21,6	0,88
Palmital	21,6	0,69
São Miguel Arcanjo	21,6	0,35
Pontal	22,4	0,65
Santa Barbara do Oeste	22,4	1,20
Santo André	22,4	1,39
Campos Novos Paulista	22,4	0,95
Botucatu	22,4	0,54
São Roque	22,4	3,55
São Paulo — Araçá	23,2	17,00
Santa Rosa do Viterbo	23,2	0,92
Tremembé	23,2	7,25
Jacupiranga	23,6	5,94
São Paulo — Santana	24,0	1,10
Sertãozinho	24,0	0,62
Itapuã	24,0	0,05
Olímpia	24,0	2,20
Bariri	24,0	6,75
Mocóca	24,0	1,29
Júlio Mesquita	24,0	0,26
Itapira	24,0	1,52
Álvares Machado	24,0	0,16
São Bernardo do Campo	24,0	1,72
Cunha	24,4	2,77
São Paulo — Freguesia do Ó	24,8	16,16
Urupês	24,8	0,91
Pirassununga	25,6	1,95
São José do Rio Pardo	25,6	0,93
Lins	25,6	10,70
Agudos	25,6	0,46
Santa Bárbara do Rio Pardo	25,6	0,81
Tambaú	26,0	2,83
Juquiá	26,0	1,22
Suzano	26,0	1,05

CIDADE	Dureza p p m	Iôdo $\mu\text{g/litro}$
Analândia	26,4	0,77
Taiuva	26,4	0,39
Santa Adélia	26,4	1,25
Barra Bonita	26,4	0,56
Irapuã	26,4	1,05
Patrocínio Paulista	27,2	0,82
Santo Antônio da Alegria	27,2	0,74
Ibirarema	27,6	0,57
Aguai	28,0	0,96
Piracicaba	28,0	0,35
Ourinhos	28,0	1,75
Cosmópolis	29,6	0,89
Barretos	30,0	0,89
Guará	30,4	2,45
Jaú	30,4	1,43
Guarulhos	30,4	0,71
Ribeirão Preto	30,8	0,69
Rincão	31,2	1,14
Glicério	31,2	1,44
Pirajú	32,0	0,21
Ariranha	32,0	1,63
Vargem Grande do Sul	32,8	3,59
Indiana	33,6	5,80
Monte Azul Paulista	33,6	1,11
Borborema	33,6	0,80
Caçapava	34,4	1,67
Santa Gertrudes	35,2	0,72
Águas de São Pedro	35,2	3,68
Eldorado Paulista	36,0	1,91
Paulo de Faria	36,0	0,49
Rio Claro	36,8	2,40
Cabrália Paulista	36,8	0,36
Gracianópolis	36,8	0,09
Fernandópolis	37,6	0,44
Biriguí	37,6	0,90
Óleo	38,4	19,40
Nova Aliança	38,4	2,52
Porangaba	39,2	0,10
Morro Agudo	40,0	1,86
Penápolis	40,0	0,76
Neves Paulista	40,4	2,98

CIDADE	Dureza p p m	Iôdo $\mu\text{g/litro}$
Tapiratiba	40,4	2,65
São Pedro do Turvo	40,4	0,85
Cajobi	41,6	0,64
São José do Rio Preto	42,4	1,37
Bebedouro	42,4	1,00
Águas do Prata	43,2	0,85
Nova Granada	44,0	0,65
Monte Mór	44,0	4,75
Paraguaçu Paulista	44,0	0,66
Itapéva	44,0	0,38
Catanduva	45,6	2,59
Junqueirópolis	45,6	0,67
Oswaldo Cruz	46,0	2,03
Tietê	46,0	1,11
Palestina	47,2	1,18
Avaré	47,2	0,34
Ibitinga	48,8	1,71
Promissão	48,8	3,48
Pres. Wenceslau	48,8	4,85
Monte Aprazível	49,6	1,63
Pirangi	49,6	1,80
Alfredo Marcondes	49,6	0,70
Monte Alto	50,4	0,44
Lavínia	50,4	6,40
Ribeira	51,2	0,33
Bento de Abreu	52,0	0,61
Dracena	52,0	1,66
Oscar Bressane	52,0	4,75
Gália	52,8	1,18
Barueri	53,6	0,05
Pindorama	54,4	0,30
Tanabi	56,0	0,90
Matão	57,2	1,60
Mirandópolis	59,6	0,19
Fartura	60,0	4,55
Getulina	60,0	1,39
Mirassol	61,6	1,62
Reginópolis	62,0	1,14
Piratininga	64,0	2,32
Pereira Barreto	64,0	4,85
Votuporanga	65,6	1,50

CIDADE	Dureza p p m	Iôdo µg/litro
Araçatuba	66,4	0,57
Marília	66,4	6,80
Adamantina	66,4	0,82
Quintana	67,2	1,11
Cabreúva	68,0	4,40
Cedral	68,0	0,25
Uchôa	68,4	1,21
Bernardino de Campos	69,6	1,05
Guaraçai	72,0	0,32
Salto Grande	72,0	1,02
Vera Cruz	72,8	1,70
Pres. Alves	72,8	0,46
Arealva	74,4	0,55
Pres. Bernardes	79,2	1,78
Estrêla do Oeste	80,4	0,02
Maracai	81,6	0,70
Jales	83,2	0,35
Duartina	84,0	0,37
Conchas	85,6	0,76
Pirajuí	86,4	0,80
Iacanga	91,2	1,81
Álvaro de Carvalho	91,2	0,32
Iepê	91,6	1,62
Santo Anastácio	93,2	21,15
Pirapõzinho	93,6	0,97
Bauru	96,0	4,42
José Bonifácio	97,6	2,64
Pompéia	100,8	4,80
Pres. Prudente	101,6	4,70
Valparaíso	108,0	0,77
Lutécia	116,0	9,04
Quatá	129,6	1,51
Lucélia	148,0	3,55
Guapiára	152,0	1,02
Registro	165,6	2,10
Flórida Paulista	185,6	4,81
Pereiras	216,8	6,89
Andradina	244,0	1,88
Pacaembu	259,2	1,63
Piquerobí	288,0	1,60





Os resultados da dosagem do iôdo apresentam as seguintes características:

QUADRO I

Grupos	Iôdo em μg por litro	Frequência	Percentagem sôbre o total de casos	Percentagens acumuladas
I	0—1	206	54,07	54,07
II	1—5	151	39,63	93,70
III	5—10	17	4,46	98,16
IV	10 e +	7	1,84	100,00
Total		381	100,00	

Média = 1,73 μg por litro

Desvio padrão = 2,526

Êrro padrão da média = 0,129

Os resultados da determinação da dureza assim se distribuem:

QUADRO II

Grupos	Dureza em p p m	Frequência	Percentagem sôbre o total de casos	Percentagens acumuladas
I	0—55	322	84,52	84,52
II	55—100	46	12,07	96,59
III	100—200	9	2,36	98,95
IV	200—500	4	1,05	100,00
Total		381	100,00	

Média = 29,111 expressa em ppm

Desvio padrão = 45,579

Erro padrão da média = 2,337

Os valores que constituem a tabela I, foram divididos em quatro grupos: I, II, III e IV, cujas características se acham no quadro III.

QUADRO III

	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
Amplitude da distribuição dos valores da dureza (ppm)	0,8—9,2	9,6—17,6	18,0—33,6	34,4—288,0
Amplitude da distribuição dos valores de iôdo ($\mu\text{g/l}$)	0,05—10,6	0,00—8,46	0,05—18,10	0,09—21,15
N.º de observações	96	94	96	95
Média dos valores de iôdo ($\mu\text{g/l}$) .	0,999	1,491	2,243	2,206
$\hat{\sigma}_I$ Desvio padrão	2,11	1,69	3,61	4,21
$\frac{\hat{\sigma}_I}{\sqrt{N}}$ Erro padrão da média ..	0,215	0,174	0,368	0,432

Para cada grupo foi determinada a média dos valores de iôdo \bar{I} , o desvio padrão $\hat{\sigma}_I$ e o erro padrão da média $\frac{\hat{\sigma}_I}{\sqrt{N}}$. Testes de significancia das diferenças foram feitos(*).

Quando se observam os valores dos grupos I, II, III e IV, sucessivamente, verifica-se um aumento progressivo nas médias referentes ao iôdo, aumento êste que, entretanto, não se mantém no grupo IV. Na hipótese de não haver correlação entre dureza e iôdo, essas quatro médias não deveriam diferir significativamente entre si. Feito o teste da diferença de médias, para as médias $I_I, I_{II}, I_{III},$ e I_{IV} , verificou-se, para alguns pares, uma diferença significativa, o que nos levaria, nestes casos, a rejeitar a hipótese de não-correlação; todavia, o estabelecimento de uma previsão dos valores de iôdo pelos correspondentes de dureza, para aqueles casos em que a hipótese de não-correlação seria rejeitada, torna-se desprovido de qualquer significado, devido à grande transvariação existente, não só entre êsses grupos, como para todos êles.

(*) Agradecemos à Docente-livre Dra. Elza S. Berquó, do Departamento de Estatística da Faculdade (Professor catedrático: Dr. Pedro Egydio de Oliveira Carvalho), o auxílio que nos prestou na análise estatística dos dados.

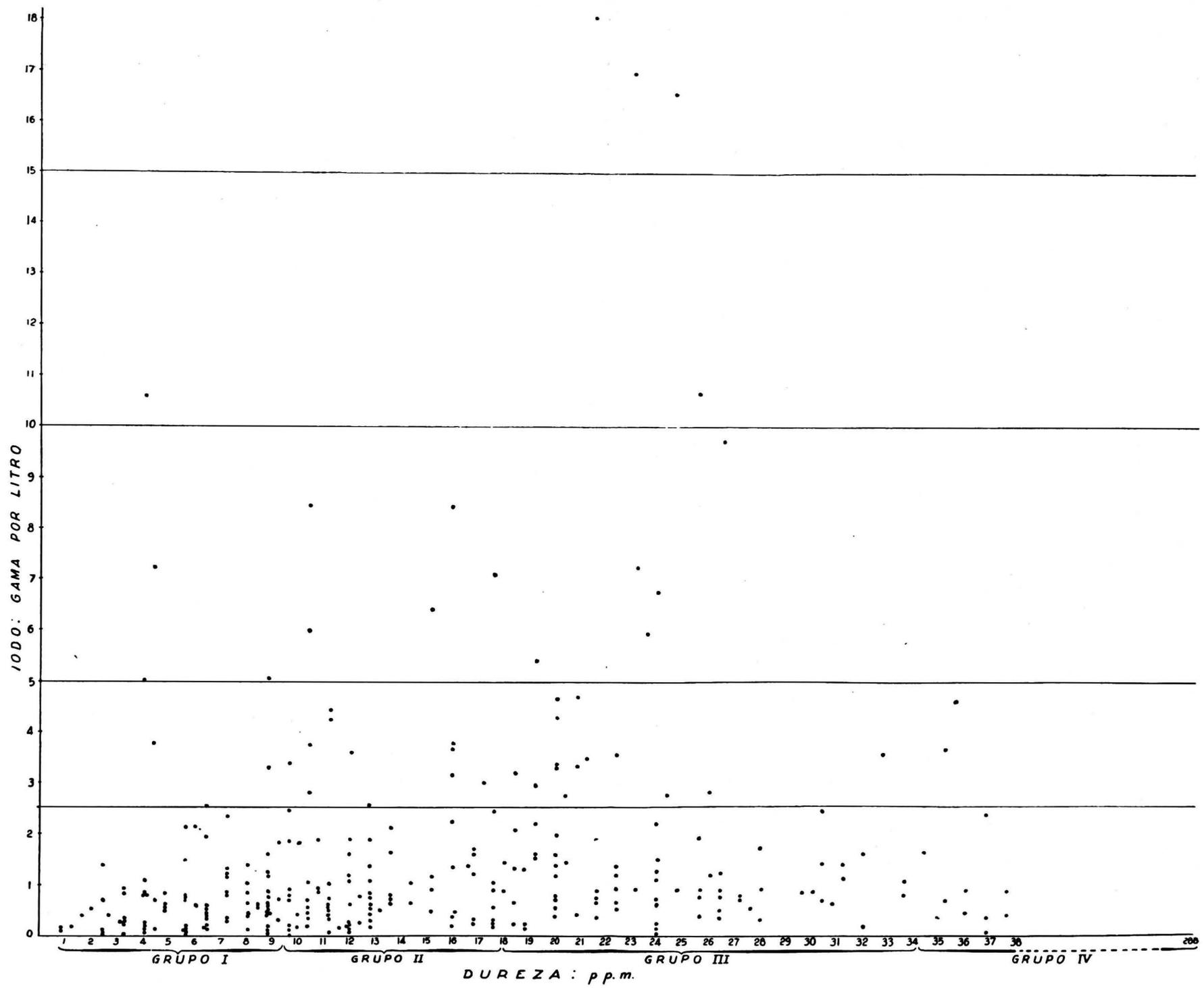


GRÁFICO I - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DOS RESULTADOS DE IODO E DUREZA DE 381 LOCALIDADES DO ESTADO DE SÃO PAULO

Se no grupo I encontramos taxas de iôdo que variaram desde 0,05 até 10,60 $\mu\text{g/litro}$, no grupo III, embora de média superior, a variação dos resultados de iôdo (0,05 a 18,10 $\mu\text{g/litro}$) ocupou zona cujos limites abrangeram, inclusive, os do grupo I. Por outro lado, as amplitudes extremas do grupo II estão contidas dentro dos limites do grupo I.

Esta transvariação pode ser bem visualizada se observarmos o gráfico I.

Para uma mesma dureza, por exemplo, 8,8 p p m (vide tabela I), os resultados de iôdo variaram de 0,12 a 5,05 $\mu\text{g/litro}$; em 10 amostras com dureza de 10,4 p p m, os resultados de iôdo variaram de 0,18, a 8,46 $\mu\text{g/litro}$, e ainda em 6 amostras que apresentaram, por exemplo, dureza igual a 21,6, os resultados de iôdo foram, respectivamente, de 0,35-0,69-0,75-0,88-1,89 e 18,10 $\mu\text{g/litro}$.

Exemplos dêstes tipos são vários e nos sugerem que, em amostras como a nossa, pode-se encontrar média de concentração de iôdo mais elevada para zonas de durezas altas, mas também nos indicam que, para uma determinada dureza, o resultado de iôdo que podemos esperar é tão variável que nos parece de nenhum valor qualquer estimativa de sua concentração pelo grau de dureza das águas.

SUMÁRIO E CONCLUSÕES

Alguns autores têm relacionado o conteúdo de iôdo das águas com o grau de dureza das mesmas. Com base nesses trabalhos, outros pesquisadores indicam a simples determinação da dureza como dado suficiente para estimar a riqueza iódica das águas.

Ao fazermos o levantamento das taxas de iôdo das águas de 381 localidades do Estado de São Paulo, resolvemos, aproveitando o mesmo material da amostra, dosar, concomitantemente, a dureza dessas águas, para pesquisar a existência ou não da possível correlação entre êsses dois dados.

Dividindo em grupos os resultados da dureza das águas, depois de dispostos em ordem crescente e determinando a média dos valores de iôdo das amostras correspondentes de cada grupo, conquanto se possa encontrar média de concentrações de iôdo mais elevada para zonas de durezas altas, a análise dos dados nos mostrou que, devido à grande transvariação existente entre êsses grupos, torna-se desprovida de valor qualquer estimativa da concentração de iôdo pelo grau de dureza das águas.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

A number of authors have reported a relationship between iodine content and the degree of hardness of water. Based on these findings, other investigators have claimed that relative iodine content can be estimated by simply measuring the hardness.

In our study of iodine content of waters from 381 localities in the State of São Paulo, we also measured at the same time the hardness of the samples to determine whether or not there was a correlation between the two factors.

The data were divided into groups on the basis of increasing hardness, and the mean of iodine content of each group calculated. Although a higher mean of iodine may be found in areas of high degree of hardness, the analysis of the data showed that owing to the great transvariation presented in those groups, it would be of no value to estimate the concentration of iodine by the degree of hardness of waters.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bado, A. A. & Trelle, R. A.: Yodo en las aguas de la Republica Argentina. An. Asoc. Quim. Arg., **17**:209, 1929, cit. in Marsano 7.
2. Betz, J. D. & Noll, C. A.: Further studies with the direct colorimetric hardness titration. J. Amer. Water Works Assoc., **42**:749-754, 1950.
3. Cardoso, F. A.; Gandra, Y. R. & Nazário, G.: Determinação do teor de iôdo em águas de abastecimento público de todos os municípios do Estado de São Paulo. Arq. Fac. Hig. Saúde Publ., **9**:13-28, 1955.
4. Góngora y Lopes, J.; Young, N. & Borda, A. I.: Bocio simples y sal yodada en Colombia. Rev. Hig. (Bogotá) **24**:291-330, 1950.
5. Houliham, J. E.: Total hardness of water by the versanate method. Direct titration with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) Analyst, **77**:158, 1952.
6. Lein, A. & Schwartz, N.: Ceric sulfate-arsenious acid reaction in microdetermination of iodine. Analyt. Chem., **23**:1507-1510, 1951.
7. Marsano, Maria Luiza A. P.: Determinacion de yodo en el agua de Mendoza. Mendoza, Universidad de Cuyo, 1952. 42p. (Boletin tecnico, n. 1).
8. Murray, M. M.; Ryle, J. A.; Simpson, B. W. & Wilson, D. C.: Thyroid enlargement and other changes related to the mineral content of water. Med. Res. Council Memor. **18**:3-39, 1948.
9. Salas, S. M. de & Amato, F. D.: Contribuicion al estudio de la endemia bociosa en el pais. Rev. Adm. Nac. Agua, **10**:101, 1946, cit. in Marsano 7.
10. Schwarzenbach, G.; Biedermann W. & Bangerter, F.: Complexone VI. Neue einfache Titriermethoden zur Bestimmung der Wasserhärte. Helv. Chim. Acta **29**:811-818, 1946.

UM FOCO DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR NA ZONA SUL DO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL °

OSWALDO PAULO FERRATINI *

OCTÁVIO DE OLIVEIRA **

Datam já de certo tempo os conhecimentos sôbre a distribuição e disseminação da leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo. Êles revelam, de maneira constante, a ausência dessa parasitose no litoral e em tôda a zona Sul do referido Estado. Silveira¹⁰ (1919), baseado em dados colhidos de doentes internados nas enfermarias dos Drs. A. Lindenberg e Ribeiro de Almeida do Hospital da Santa Casa de São Paulo, durante os anos de 1913 a 1918, refere casos procedentes do litoral (Santos e São Sebastião). No mapa que acompanha o referido trabalho, notam-se as palavras "Região Indemne" colocadas na área correspondente à região Sul. Barbosa¹ (1936), reúne dados colhidos sôbre casos de leishmaniose das mucosas, observados durante o período de 1913 a 1935 no Serviço de Oto-rino-laringologia do mesmo Hospital acima citado. Nesse trabalho, o autor refere 24 casos procedentes da região servida pela Estrada de Ferro Santos-Jundiaí (antiga São Paulo Railway), e no que concerne à zona Sul, apenas um caso procedente de Itapetininga. Campos² (1944) apresenta os dados obtidos em doentes que procuraram o Serviço de Oto-rino-laringologia da Santa Casa de São Paulo, no período de 1939 a 1943. Cita alguns casos procedentes de Santos e Vila Bela (litoral) e de Itaporanga e Sorocaba (zona Sul).

Os dados acima mencionados, não estão porém isentos de crítica. Com efeito, existem numerosas razões que nos levam sempre a tomar, com as devidas reservas, as demarcações de zonas infestadas, baseadas em informações de procedência de doentes. Bastará considerarmos o longo tempo de incubação das formas mucosas, que poderá ir a alguns anos, aliado à instabilidade do nosso homem do campo, para compreendermos como pode vir a ser falha a informação baseada na simples procedência ou domicílio na época do internamento no Hospital.

Pessôa e Pestana⁷ (1940) realizaram um inquérito nos Centros de Saúde do Interior Paulista, recolhendo dados através de fichários e de inspeções

Recebido para publicação em 11-12-1956.

° Trabalho realizado na Cadeira de Parasitologia Aplicada e Higiene Rural (Prof. Paulo César de Azevedo Antunes), com a colaboração da Divisão do Serviço do Interior do Departamento de Saúde do Estado (Dr. José de Toledo Piza). Apresentado à Sessão de 4-12-1956 do Departamento de Higiene e Medicina Tropical da Associação Paulista de Medicina.

* Assistente e Livre-docente da Cadeira.

** Médico da Divisão do Serviço do Interior do Departamento de Saúde do Estado.

personais. A análise dos dados dos referidos autores, revela a ausência de casos no litoral e zona Sul (São Paulo-Rio Grande). Baseados em tais dados bem como naqueles fornecidos pelos autores que os precederam, organizaram um mapa de distribuição da moléstia, considerando as seguintes zonas (Fig. 1):



Fig. 1 Mapa da distribuição da leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo, organizado por Pessoa e Pestana (1940)

a) Zonas de alta endemicidade, com 10 a 20% da população rural infectada, e compreendendo a Alta Paulista a partir de Marília, a Alta Sorocabana a partir de Presidente Prudente, e a Noroeste a partir de Araçatuba, estendendo-se até o Rio Paraná e limitadas ao Norte e Sul pelos Rios Tietê e Paranapanema, respectivamente.

b) Zona de baixas endemicidades, onde o número de casos não ultrapassa 1% da população e compreende a Araraquarense a partir de Rio Preto, a Noroeste a partir de Bauru e a Sorocabana a partir de Ourinhos.

c) Zonas onde a moléstia aparece de maneira esporádica, abrangendo as zonas servidas pelas Companhias Paulista, Mogiana, Sorocabana e Central do Brasil, incluindo a Capital do Estado.

d) Zonas onde ela é praticamente desconhecida, compreendendo o litoral e a zona Sul (São Paulo-Rio Grande).

Como vemos, as regiões do litoral e, em especial modo, do Sul, não figuram, nos trabalhos até agora realizados, como áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar.

Em vista disso, foi com grande interêsse que acolhemos a notícia de que um provável caso dessa parasitose, e procedente do Município de Jacupiranga, localizado na região Sul do Estado, fôra tratado no Hospital da Santa Casa de Santos, em princípios do corrente ano de 1956. Consultando a ficha dêsse doente, colhemos os dados que constam da relação abaixo. Assim sendo, resolvemos realizar uma viagem à região de procedência dêsse caso, a qual foi levada a efeito no mês de novembro próximo passado. Conseguimos, assim, não sòmente deparar com o caso em questão, como verificar, pela presença de outros doentes, a existência de um foco de leishmaniose tegumentar. A relação dos dados que colhemos nessa ocasião, constitue o objetivo do presente trabalho.

Características locais. — Como se verifica pela observação do mapa constante da Fig. 2, o Município de Jacupiranga está situado na zona Sul do Estado de São Paulo, chegando a limitar com o vizinho Estado do Paraná. Está pois, incluído (Fig. 1) na “Região onde a leishmaniose tegumentar é praticamente desconhecida ou não existe”, de Pessôa e Pestana⁷ (1940). Os casos foram observados em duas localidades ou “bairros” vizinhos, denominados “bairro do Açúcar” e “bairro de Queimados”. Situados a cêrca de 50 quilômetros ao Sul da sede do Município, aproximadamente a 25° de latitude Sul e 48° de longitude Oeste. O mapa representado pela Fig. 2 dá-nos uma idéia dessa situação. O primeiro dêsses bairros, está localizado nas margens do Rio da Capelinha, afluente do Rio Jacupiranguinha (o qual depois se continua com o nome de Jacupiranga), em cujas bordas, mais baixas, encontra-se o segundo dos mencionados bairros. O rio Jacupiranga lança suas águas mais ao Norte, no Ribeira de Iguape o qual desagua no Oceano Atlântico.

A região é muito acidentada, essencialmente montanhosa, pertencente ao conjunto da Serra de Paranapiacaba. A altitude local varia de 600 a 1000 metros acima do nível do mar. O rio Jacupiranguinha e seus afluentes, correm entre as Serras do Guaraú e do Descanso, tendo a Serra do Cadeado mais ao Sul, já no limite com o Estado do Paraná. A vegetação local, constituída primariamente por matas virgens, apresenta-se bastante desbastada pela população local, ali residente há muito tempo. Assim sendo, as matas existentes são principalmente de segunda formação, notando-se a presença freqüente de derrubadas e queimadas, para o plantio subsequente de milho e arroz.

As habitações são escassas e apresentam-se espalhadas ou agrupadas em pequenos núcleos denominados “bairros” aos quais já nos referimos. Situam-se geralmente no fundo de vales, às margens de cursos de água. O tipo de habitação é o de paredes barreadas e coberta de telhas de cerâmica, com assoalho de madeira e a certa altura do solo. Como já mencionamos, a principal atividade da população local é a agricultura, principalmente a de milho e arroz, sendo de se notar a escassez de gado vacum.

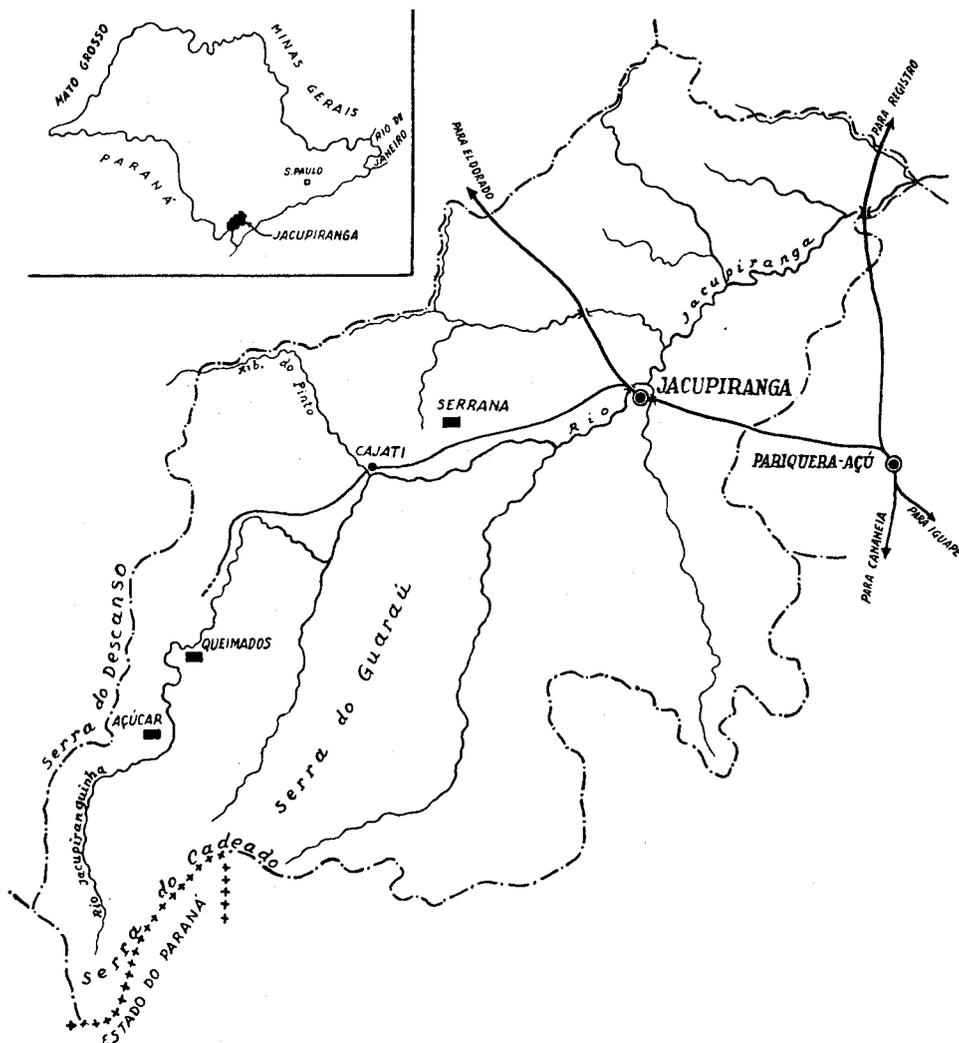


Fig. 2 — Mapa do município de Jacupiranga com indicações dos Bairros do Açúcar e de Queimados

O acesso à região é sensivelmente dificultado pela ausência de boas vias de comunicação. A estrada de rodagem que sai da cidade de Jacupiranga, termina a pouco mais de 13 quilômetros da vila de Cajati. O restante do trajeto, até os mencionados núcleos, é somente acessível a cavalo.

As Figuras 3, 4, 5, e 6, darão uma idéia do que acima foi dito.

Casos Observados. — O caso que deu origem a esta investigação foi diagnosticado e tratado, como dissemos, no Hospital da Santa Casa de Santos, sendo que o diagnóstico foi feito através a reação intra-dérmica de Montenegro. Os demais casos aqui relatados, foram diagnosticados por nós pelo encontro de leishmaniose nas lesões. Além disso, verificamos a presença de portadores de lesões cicatriciais que reagiram positivamente à reação de Montenegro feita

com antígeno que nos foi gentilmente cedido pelo Prof. Antonio Dácio F. do Amaral, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, motivo



Fig. 3 — Aspectos da região montanhosa no Município de Jacupiranga, Estado de S. Paulo

pelo qual os incluímos no ról dos casos observados. Todos os doentes, bem como os demais habitantes locais, são naturais dessa região, de onde nunca se afastaram.



Fig. 4 — Outro aspecto da mesma região, notando-se as matas de segunda formação

No bairro do Açúcar, onde habitam 3 famílias (Fig. 5), e está instalada uma escola municipal, pudemos observar os seguintes casos:

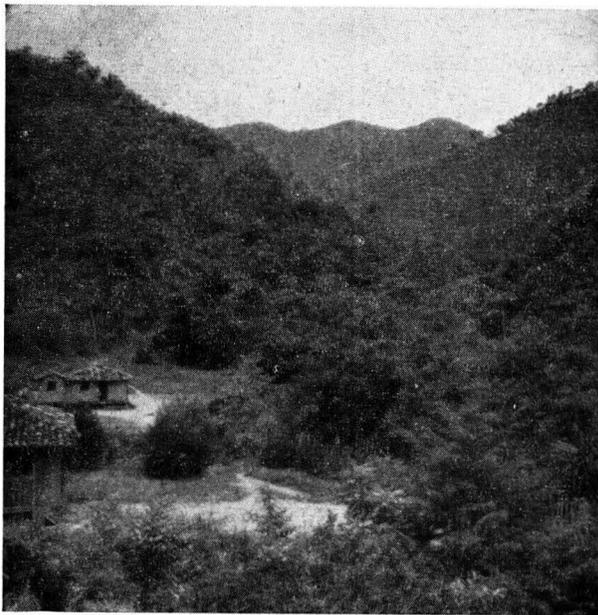


Fig. 5 — Bairro do açúcar

Caso 1) N. G. S., 42 anos, masculino. Trabalha em formação de roças e, principalmente, em rogado de capoeiras. Apresenta três lesões ulcerosas na porção superior esquerda do pescoço, logo abaixo do pavilhão da orelha do mesmo lado (Fig. 7). Dessas três lesões, uma é maior, de bordas nítidas e salientes e, segundo informações do próprio doente, teve o seu início em setem-

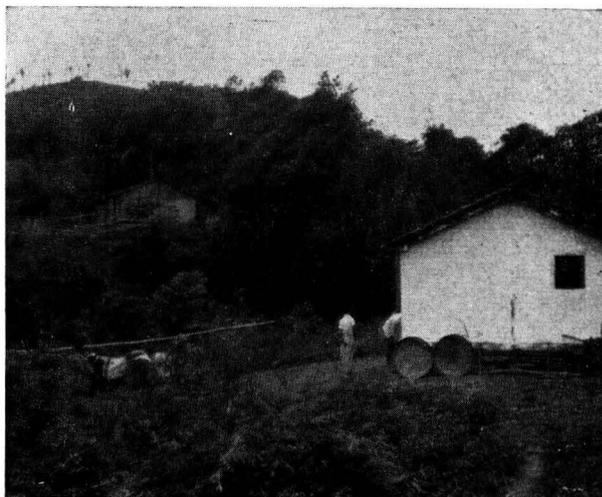


Fig. 6 — Bairro de Queimados

bro do corrente ano. As outras duas, vizinhas à primeira, estão em início de ulceração e parecem acompanhar o trajeto de um linfático. A média apareceu em outubro passado, e a menor, há cêrca de 20 dias. Reação de Montenegro positiva. O exame de esfregaços feitos com material retirado das lesões, revelou a presença de leishmanias.



Fig. 7 — Caso 1

Caso 2) M. J. V., 7 anos, feminino. Esse foi o caso tratado na Santa Casa de Santos e que chamou a nossa atenção da qual resultou a presente investigação. Do fichário do referido Hospital, retiramos os seguintes dados: “Deu entrada em 6-1-1956. O exame local revelou a presença de uma lesão tubérculo-úlcerocróstosa na asa do nariz. A lesão principiou como mordida de mosquito, há cêrca de um mês (sic.) Reação de Montenegro positiva. Tratamento com glucantime. Alta em 18-2-1956 com a lesão em franca regressão”. Por ocasião de nossa visita, apresentava extensa cicatriz que se estendia do dorso do nariz até a região sub-palpebral direita (Fig. 8).

Caso 3) E. P. V., 9 anos, feminino. Irmã da precedente. Apresenta uma lesão cicatricial de cêrca de 3,5 cms. de diâmetro na região retro-ocular e pré-auricular direita (Fig. 9). Essa lesão teve o seu início há cêrca de 2 anos, e **regrediu para** a cicatrização, após evolução que durou cêrca de um ano, segundo informações prestadas pelo pai da paciente. Os tratamentos utilizados foram apenas de aplicação local (pomadas, etc.). Reação de Montenegro positiva.

Caso 4) M. V., 48 anos, masculino. Apresenta uma cicatriz de cêrca de 2 cms. de diâmetro na região facial esquerda. Segundo informações do paciente, ela é resultante de uma lesão que ali se instalou hã cêrca de 4 anos e



Fig. 8 — Caso 2

que, após o uso de diversos tratamentos locais, que não sabe especificar, terminou curando-se, deixando a atual cicatriz. A evolução foi de pouco mais de um ano. Reação de Montenegro positiva.



Fig. 9 — Caso 3

Caso 5) A. V., 10 anos, feminino. Filha do precedente. Ao exame, revelou pequena cicatriz no mento, 3 outras com cêrca de 1 a 2 cms. de diâmetro, no cotovêlo direito, e uma terceira com cêrca de 2,5 cms. de diâmetro na porção superior da face interna do braço direito. Pelas informações colhidas, tais cicatrizes são o resultado de lesões que apareceram mais ou menos simultâneamente, aproximadamente há um ano e meio. Após o uso de medicações tópicas, tais lesões evoluíram para a cura, deixando as cicatrizes mencionadas. Há cêrca de um ano que está curada. Reação de Montenegro positiva.

No bairro de Queimados (Fig. 6), onde moram 4 famílias, observamos os seguintes casos:

Caso 6) T. M. J., 75 anos, feminino. Apresenta duas lesões ulcerosas, arredondadas, com cêrca de 2 cms. de diâmetro cada uma, de bordas salientes, cobertas com crosta. A localização é a seguinte: uma na raiz do polegar direito, e outra logo abaixo, a pequena distância da primeira (Fig. 10). Segundo refere a paciente, tais lesões apareceram simultâneamente e têm cêrca de um ano de idade. Os esfregaços feitos revelaram a presença de leishmanias.

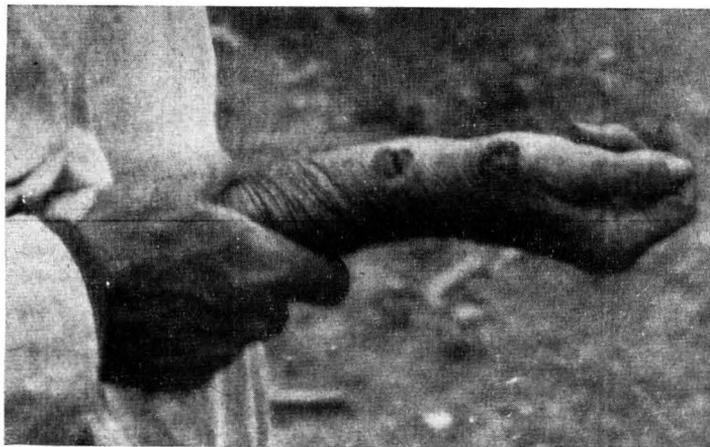


Fig. 10 — Caso 6

Caso 7) D. C., 23 anos, feminino. Observamos duas lesões ulcerosas na face posterior do antebraço direito, uma no cotovêlo correspondente e outra na face posterior do braço do mesmo lado (Fig. 11). Tais lesões tiveram o seu início há cêrca de 5 meses. Os esfregaços revelaram-se positivos para leishmanias.

Caso 8) T. de O., 18 anos, feminino. Apresenta uma lesão úlcero-crosta de bordas nítidas, situada na face anterior do braço esquerdo (Fig. 12), a qual tem cêrca de 7 meses de evolução. Os esfregaços realizados revelaram a presença de leishmanias.

Pesquisas entomológicas. — Devido às péssimas condições atmosféricas reinantes por ocasião de nossa visita, somente pudemo coletar dois exemplares de *Phlebotomus* no bairro do Açúcar. O exame revelou que se tratava de duas fêmeas de *P. fischeri*.



Fig. 11 — Caso 7

Considerações gerais. — Do que acima dissemos, não é difícil concluir que essa região constitue uma área endêmica de leishmaniose tegumentar. Com efeito, tudo nos leva a afirmar da natureza autóctone dos casos observados, uma vez que os pacientes eram todos naturais da região e dela nunca se afastaram, como aliás já tivemos ocasião de assinalar. Por outro lado, as migrações



Fig. 12 — Caso 8

ali têm sido raras e praticamente desprezíveis. Trata-se pois, de mais um foco dessa parasitose no Estado de São Paulo, com a particularidade de ocorrer na zona Sul onde, até o momento não se tinha conhecimento de sua existência.

Tal parte do Município de Jacupiranga pertence, sob o ponto de vista geográfico, à região montanhosa que constitui a Serra de Paranapiacaba, a qual se continua mais ao Norte, na Serra do Mar e naquelas situadas a Oeste do Vale do Paraíba (Cantareira, Palmital, Mantiqueira, etc.). Podemos portanto, considerar um conjunto montanhoso situado próximo do litoral e correndo paralelamente ao mesmo, a Leste do Estado. Assim pois, acreditamos na possibilidade de existência de outros focos nessa região de serras, grande parte da qual está compreendida na chamada "zonas onde a moléstia aparece de maneira esporádica" de Pessôa e Pestana⁷ (1940). Como reforço à hipótese que aventamos, chamamos a atenção para a concorrência de casos autóctones no Município da Capital, que têm sido assinalados por vários autores como Gomes⁴ (1917), Silveira¹⁰ (1919), Lindenberg⁶ (1928), Pupo⁹ (1935) e Pestana e Pessôa⁸ (1939), em Salesópolis, assinalado por Pupo⁹ (1935), em Santa Isabel, assinalado por Castro e Gomes³ (1949) e em Guaratinguetá, assinalado por Lacaz⁵ (1949).

Não conseguimos observar casos de portadores de lesões mucosas. Todavia, dado o curto prazo de permanência na região, não podemos deduzir desse fato, nenhuma conclusão. Não deixa de ser porém, interessante assinalar que naqueles casos com lesão cutânea já cicatrizada, o exame clínico não revelou qualquer comprometimento para o lado da mucosa nasal.

Para terminar, a existência de um foco de leishmaniose tegumentar em uma região tida, até agora, como isenta, deve alertar-nos no sentido de um maior e mais acurado estudo dessa endemia. Somos de opinião que é imperiosa a necessidade de realizar um inquérito epidemiológico em todo o Estado de São Paulo, a fim de verificar a real disseminação dessa parasitose entre nós.

RESUMO

Os autores relatam o achado de um foco de leishmaniose tegumentar em região montanhosa do Município de Jacupiranga, situado na zona Sul do Estado de São Paulo. Foram observados quatro casos com lesões em evolução, um caso que já tinha sido tratado no Hospital da Santa Casa de Santos, e três casos de portadores de lesões cicatriciais que responderam positivamente à reação intra-dérmica de Montenegro. Não foram encontradas lesões mucosas. Em vista desse achado, numa zona do Estado, até o presente considerada isenta dessa parasitose, os autores chamam a atenção para a necessidade de realização de um inquérito que abranja todo o Estado de São Paulo.

SUMMARY

The authors report the finding of an endemic area of Cutaneous Leishmaniasis in a mountain region of the Município de Jacupiranga, on the South of the State of São Paulo, Brazil. They have observed four active cases with cutaneous lesions, a case that was already treated at the Hospital of Santa Casa of Santos and three cases having cicatricial lesions with positive intradermical reaction of Montenegro. Mucous lesions were not found. By this finding, in a region of the State that was considered until now as having not that parasitosis, the authors call attention to need of an epidemiological study in all the State of São Paulo, Brazil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barbosa, J. E. R.: Dados estatísticos sôbre casos de leishmaniose das mucosas observados no Serviço de Oto-rino-laringologia da Santa Casa de São Paulo. *Rev. oto-laring. S. Paulo*, **4**:697-714, 1936.
2. Campos, J. A.: Estatística dos casos de leishmaniose das mucosas, observados no Serviço de Oto-rino-laringologia da Santa Casa de São Paulo no lustro 1939-1943. *Rev. brasil. Oto-rino-laring.* **12**:372-392, 1944.
3. Castro, M. de & Gomes, L. S.: Leishmaniose cutânea em paciente procedente de Santa Isabel. *An. paulist. Med. Cirurg.*, **57**:116-118, 1949.
4. Gomes, F., *in* Neiva, A. & Barbará, B.: Leishmaniosis tegumentaria americana. Numerosos casos autóctonos en la Republica Argentina. [Separata] da 1.^a Conf. Sud. Amer. Soc. Microbiol. Patol., 1916. Buenos Aires, 1917. p. 311-372.
5. Lacaz, C. S.: Comentário à Comunicação de M. Castro e L. S. Gomes. *An. paulist. Med. Cirurg.* **57**:118, 1949.
6. Lindenberg, A., *in* Motta, L. da C.: Histo-patologia da leishmaniose tegumentar cutânea. *An. Fac. Med. S. Paulo*, **3**:101-115, 1928.
7. Pessôa, S. B. & Pestana, B. R.: Sôbre a disseminação da leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo. Resultado de um inquérito realizado nos "Centros de Saúde" do Interior. *Fôlha méd.* **21**:20-23, 1940.
8. Pestana, B. R. & Pessôa, S. B.: Leishmaniose tegumentar autóctone no município de São Paulo. *An. paulist. Med. Cirurg.* **38**:435-442, 1939.
9. Pupo, J. A.: Tratamento da leishmaniose tegumentar americana pelas injeções de meta-arsenito de sódio. *Rev. Med. Pernambuco*, **5**:373-384, 1935.
10. Silveira, R. C. da: Distribuição e freqüência da Leishmaniose em São Paulo, 1919. Tese — Fac. Med. Univ. S. Paulo.

ATIVIDADES DE SAÚDE PÚBLICA NA ZONA RURAL COM ESPECIAL REFERÊNCIA AO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL ^o

OSWALDO PAULO FORATTINI *

PAULO CARVALHO CASTRO **

O tema é demasiado complexo e, forçoso dizê-lo, ingrato em seus resultados, pela influência negativa dos inúmeros fatores que atuam na vida rural. O meio apresenta, com raríssimas exceções, condições adversas para promoção da saúde, agravadas pela escassez ou falta absoluta da assistência oficial. O relativo abandono das populações rurais pelos poderes públicos se verifica em todo os setores governamentais: educação, agricultura, crédito, transporte, etc., que são elementos igualmente indispensáveis para a manutenção e melhoria da saúde. Dêsse assunto extenso e multiforme, abordaremos apenas alguns aspectos que dizem mais de perto à saúde pública.

I — CONCEITO DE ZONA RURAL

Ainda não existe uma definição unânimemente aceita. Smillie ⁵¹ considera como pertencentes à zona rural, tôdas as cidades com 50.000 habitantes ou menos, com núcleos adjacentes e esparsos, e casas isoladas. Êste conceito, todavia, conforme salienta Ribas ⁴⁵, ainda não corresponde à atualidade demográfica do nosso País, como se verá adiante.

A Repartição Censitária dos Estados Unidos estabelece periodicamente, o limite de população que marca a divisão urbana e rural das comunidades. Assim é que, em 1880 êsse limite era de 8.000 habitantes, baixou para 4.000 em 1890 e 1900, tendo sido recentemente fixado em 2.500. Mustard ³⁶ aceita êsse critério “desde que não seja seguido cegamente”. Com efeito, como ressalta o referido autor, numa comunidade com 2.500 habitantes ou menos, os problemas sanitários como destino de dejetos, lixo, etc., tem maior probabilidade de serem da alçada individual do que da coletiva.

O Instituto Internacional de Estatística, reunido em Praga em 1938, propôs a seguinte definição: “considera-se como rural a população de todo distrito cujo núcleo tiver um número de habitantes inferior a um certo limite estabelecido, e cuja população agrícola formar uma percentagem superior a 60% da população ativa total” (Pessoa ⁴³). Vê-se, por essa definição, a adoção

Recebido para publicação em 8-10-1957.

^o Trabalho realizado nas Cadeiras de Parasitologia Aplicada e Higiene Rural (Prof. Paulo César de Azevedo Antunes) e Técnica de Saúde Pública (Prof. Rodolfo dos Santos Mascarenhas) da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

* Livre docente e assistente da Cadeira de Parasitologia Aplicada e Higiene Rural.

** Assistente da Cadeira de Técnica de Saúde Pública.

do duplo critério que compreende a densidade demográfica e a ocupação, considerando-se como população agrícola o conjunto daqueles indivíduos que exercem funções relacionadas com a agricultura e dependentes.

Na Europa, os mínimos populacionais exigidos também variam de país a país. Assim é que na Inglaterra e Alemanha é de 5.000, enquanto que na França é de 2.000 (Candau e Braga¹¹).

No Brasil, ainda não há um critério bem estabelecido. Barros Barreto⁴ define como zona rural, a zona dos campos, ou de população dispersa, e as coletividades em que ela é inferior a 2.000 — 2.500 habitantes, ocupando-se a sua maioria — cêrca de 60% — em atividades agrícolas. Vemos, pois, que o referido autor segue, em linhas gerais, a definição do Instituto Internacional de Estatística.

Segundo o I.B.G.E.⁹, no recenseamento de 1950 o critério foi o seguinte: “Situação do domicílio — A população é distribuída segundo a situação do domicílio (urbano, suburbano e rural) definido por lei e fixado pelo Govêrno Municipal. O Decreto-lei n. 311 de 1938 tornou executível esta classificação da população, a partir do Censo de 1940. Como quadros urbano e suburbano, entende-se a área correspondente às “cidades” (sedes municipais) ou às “vilas” (sedes distritais). A “cidade” deve abranger no mínimo 200 moradias e as “vilas”, 30 moradias. Essa exigência legal, entretanto, nem sempre tem sido atendida. O quadro rural abrange tôda a área situada fora dos limites das cidades e vilas”.

Vemos assim que a zona rural é conceituada por exclusão, dependendo de leis municipais. Todavia, a delimitação pelas prefeituras dos quadros urbanos e suburbanos é empírica, em geral, baseada no lançamento de impostos. Como êsses impostos cabem aos municípios, enquanto que os da zona rural cabem ao Estado, aqueles procuram estender ao máximo os limites acima referidos. Devido a essas falhas, torna-se difícil aceitar êsse critério “legal” que pode chegar ao extremo de considerar urbana, comunidades de pouco mais de 100 habitantes.

Compulsando os dados do Censo de 1950⁷ verifica-se que no Brasil, para uma população total de 51.944.397 habitantes, temos 18.775.779 ou seja, 36,14% vivendo em cidades e vilas, o que permite deduzir que 33.157.518 pessoas, ou 63,86%, vivem na zona rural. Pelo quadro I verifica-se, todavia, que 4.206 localidades (858 cidades e 3.348 vilas) possuem menos de 2.000 habitantes. Por conseguinte, se adotarmos o critério de Barros Barreto⁴ devemos incluir 2.764.422 pessoas como habitantes da zona rural e, segundo o critério de Smillie⁴⁹ serão adicionados 10.289.135 habitantes. As percentagens de pessoas vivendo na zona rural ascenderão, respectivamente, para 69,17% e 83,66% conforme verifica-se no quadro II.

Quanto ao Estado de São Paulo, o recenseamento de 1950⁹ registrava 4.330.212 pessoas morando na zona rural, ou seja 47,4% do total de 9.134.423 habitantes.

Com os dados publicados pelo I.B.G.E.⁸ elaboramos o quadro III.

QUADRO I — População das Cidades e Vilas do Brasil, segundo os dados do VI Recenseamento Geral (1.º de Julho de 1950)

Habitantes	CIDADES		VILAS		TOTAL	
	N.º	População	N.º	População	N.º	População
Até 2 000	858	1 022 059	3 348	1 742 363	4 206	2 764 422
De 2 001 a 50 000	997	6 821 869	140	702 844	1 137	7 524 713
De mais de 50 000	32	8 434 220	1	52 424	33	8 486 644
Total	1 887	16 278 148	3 489	2 497 631	5 376	18 775 779

QUADRO II — Distribuição Urbana e Rural da população do Brasil, segundo diversos critérios, e baseada nos dados do VI Recenseamento Geral (1.º de Julho de 1950)

CRITERIOS	URBANA		RURAL		TOTAL
	População	%	População	%	População
Censo Geral de 1 950	18 775 779	36,15	33 168 618	63,85	51 944 397
Barros Barreto	16 011 357	30,83	35 933 040	69,17	51 944 397
Smillie	8 486 644	16,34	43 457 753	83,66	51 944 397

QUADRO III — Distribuição das Cidades e Vilas do Estado de São Paulo, segundo a população do Censo de 1950

HABITANTES	CIDADES		VILAS	
	N.º	População	N.º	População
Até 500	5	1 859	235	68 788
501 a 1 000	44	33 322	103	69 617
1 001 a 2 000	102	145 313	36	47 544
2 001 a 5 000	103	313 501	7	24 280
5 001 a 10 000	59	415 212	4	25 868
10 001 a 20 000	28	394 431	1	16 022
20 001 a 50 000	20	597 168	—	—
Mais de 50 000	8	2 651 286	—	—
Total	369	4 552 092	386	252 119

Verifica-se que 151 cidades e 374 vilas possuíam população inferiores a 2.000 habitantes em um total de 180.494 e 185.949 pessoas respectivamente. Com as 29 cidades cuja população encontrava-se entre 2.000 e 2.500 habitantes, temos um total de 180 cidades, em 1950, com menos de 2.500 habitantes ou seja 48,8% do total das sedes dos municípios paulistas que poderiam ser considerados rurais.

A Seção de Estatística da Divisão do Serviço do Interior do Departamento de Saúde de São Paulo, estimou em 1955 a população do Estado (exclusive a Capital) em 7.782.557 habitantes. Sendo que 4.483.394 ou 57,61% do total estavam localizados na zona rural. Entretanto, da população urbana 274.866 pessoas residiam em 206 cidades com menos de 2.500 habitantes. Se considerarmos estas cidades como comunidades rurais, aquela percentagem elevar-se-á à 60,75%.

Com os dados daquela Seção da Divisão do Serviço do Interior organizamos com o auxílio da educadora D. Helena Savastano o quadro IV onde verifica-se que 48,35% das sedes dos municípios do Estado contam com menos de 2.500 habitantes e poderiam ser considerados "zona rural".

QUADRO IV — Distribuição das Cidades* (Sede de Municípios) do Estado de São Paulo segundo a população estimada para 1955 pela Divisão do Serviço do Interior

POPULAÇÃO	Frequência	Frequência Acumulada	Porcentagem Acumulada
Até 500.....	12	12	2,81
501 a 1 000.....	53	65	15,25
1 001 a 2 000.....	112	117	41,54
2 001 a 2 500.....	29	206	48,35
2 501 a 5 000.....	97	303	71,12
5 001 a 10 000.....	60	363	85,21
10 001 a 20 000.....	33	396	92,57
20 001 mais.....	30	426	100,00

* Não constam o município da Capital e os seguintes: Ferraz de Vasconcelos, Igarapé do Tietê, Indaiaporã, Mirante do Paranapanema, Paraíso, Pirangá, Platina e Santa Fé do Sul por não ter sido possível a separação das populações urbana e rural.

Estes exemplos mostram a dificuldade de seguir-se um critério exclusivamente baseado na população. Somos de opinião de que para o caso do Estado de São Paulo o critério do Censo de 1950 poderia ser seguido com reservas, incluindo-se as localidades com menos de 2.000 habitantes assim como aquelas que, embora com população maior, apresentarem problemas de saúde pública e outras características semelhantes às da zona rural.

II — IMPORTANCIA DO TEMA

O assunto é de interesse capital, pois basta considerarmos o elevado número de pessoas que habitam e trabalham na zona rural, como já demonstramos no item anterior. Qualquer que seja o critério para conceituar a "zona

rural” a população urbana, entre nós constitui minoria. Este fato verifica-se não somente no Brasil e América Latina mas também no resto do mundo. Segundo a estimativa da Oitava Assembléia Mundial de Saúde³⁷, dois terços da humanidade, ou seja 1.300 milhões de pessoas vivem da agricultura em zonas rurais. Os problemas dessas populações podem variar mas geralmente apresentam condições comuns, tais como: vida média baixa, desnutrição, baixo nível econômico, condições deficientes de habitação e vestuário, analfabetismo, endemias predominantemente rurais e assistência médica deficiente. O valor econômico das medidas preventivas que podem ser tomadas a favor dessa imensa população, foi demonstrado em magnífico trabalho de Winslow⁵⁶.

III — ATIVIDADES SANITÁRIAS PARA A ZONA RURAL

Antes de analisarmos as diversas atividades sanitárias, desejamos salientar que a conceituação de saúde pública evoluindo e modificando em vários de seus aspectos, torna difícil uma sistematização rígida e estática.

Das conclusões a que chegaram os técnicos da Oitava Assembléia Mundial de Saúde³⁷ transcrevemos as seguintes:

“1. Todo programa de saúde rural deve se basear em um conhecimento adequado de localidade, que compreende a geografia, o clima, a cultura, o estado sanitário da população, o nível e estrutura econômica, o grau de educação e a organização governamental.

2. Para o desenvolvimento e o progresso das comunidades, será preferível o planejamento simultâneo de “objetivos múltiplos”, que combine as atividades sanitárias com as de agricultura, educação, etc.

3. É essencial que a comunidade participe nos programas, sem que estes deixem de receber algum apoio das administrações centrais, sob a forma de direção, orientação e assistência técnica.

4. Os programas de saúde pública nas zonas rurais podem frequentemente iniciar-se com atividades especializadas (uma campanha contra a boubá ou a malária, por exemplo) as quais serão logo integradas em um programa geral e se incorporarão aos Serviços Sanitários locais”.

Vemos que as recomendações iniciam-se com a necessidade do conhecimento da área a ser trabalhada. Daí depreende-se que a instalação de um serviço de saúde rural será precedido pelo levantamento de dados que permitam o conhecimento amplo da comunidade. É o conhecido “Inquérito Preliminar” necessário para elaboração do programa da Unidade local que reunirá todas atividades de saúde pública, embora possam ter-se iniciado como atividades especializadas em virtude da prioridade do problema.

As várias atividades sanitárias que a unidade local poderá desempenhar são agrupadas ou relacionadas de formas diversas pelos especialistas. Candau e Braga¹¹ dividem em atividades *básicas*: o saneamento, assistência médica e educação sanitária; e *atividades complementares*: — a higiene da maternidade e da criança e o controle das doenças transmissíveis. Gastão C. Andrade e V. Suter² analisando a estrutura de um serviço rural na Amazônia chegam a seguinte conclusão: “Nas áreas rurais da Amazônia, as atividades de saúde pública devem abranger cinco aspectos especiais num só problema: assistência médica, saneamento, higiene da maternidade e da criança, controle de doenças transmissíveis e educação sanitária.

Nas unidades do SESP na área do Rio Doce segundo Penido, Melloni e Azevedo⁴¹ a chefia tinha a responsabilidade direta das seguintes atividades: “epidemiologia e profilaxia das doenças infecto-contagiosas, coleta de dados bioestatísticos, educação sanitária e saneamento do meio, além da parte administrativa”. “As outras atividades exercidas, no momento, pelas unidades sanitárias são as seguintes: (a) higiene pré-natal, infantil, pré-escolar e escolar; (b) assistência médica às pessoas incluídas no item anterior; (c) higiene e assistência dentária às pré-natais, pré-escolares e escolares; (d) lactário para fornecimento de regime e leite ao lactante e crianças sub-nutridas; (e) laboratórios para auxiliar os diagnósticos e fazer o exame bacteriológico da água; (f) distribuição de mudas e sementes de hortaliças, assim como uma horta de demonstração”.

Mazzei e Merlo³⁵ distinguem como atividades básicas das sub-unidades: higiene da maternidade e da criança, assistência médica, saneamento, educação sanitária e controle de doenças transmissíveis. São atividades fundamentais para A. S. Loyola³¹ bioestatística, assistência médica, controle de doenças transmissíveis, laboratório, saneamento, higiene da maternidade e da criança e, educação sanitária. Sugerindo um programa mínimo de trabalho Santo e Souza⁴⁸, assim se expressam: O saneamento, alimentação e educação sanitária seriam funções básicas, o tripé de onde partiríamos para o alevantamento do padrão de saúde do povo, acrescido da higiene da criança logo que as disponibilidades financeiras e técnicas o permitirem”. Cantídio e Sales¹² relatam o serviço móvel de assistência médico-sanitária no Ceará destinados a “combater os surtos de natureza epidêmica e assistir aos aglomerados humanos desordenados, como festas religiosas no interior”.

A Comissão de Peritos da O.M.S.⁴⁰ considerará essenciais para a zona rural os seguintes serviços:

- a. higiene materna e infantil;
- b. controle das moléstias transmissíveis;
- c. saneamento do meio;
- d. registro de dados estatísticos;
- e. educação sanitária;

- f. enfermagem de saúde pública;
- g. medicina curativa (variando a intensidade com as necessidades da área e acessibilidade aos centros hospitalares).

Com finalidades didáticas, Mascarenhas e Castro³⁴ classificam as atividades da unidade sanitária local em básicas, obrigatórias e facultativas, atendendo as características mais freqüentes em São Paulo. As atividades básicas dos Centros e Sub-centros de Saúde para estes autores são semelhantes às relacionadas pelos especialistas da O.M.S. acrescida da higiene do adulto e higiene dentária. É preciso notar que na classificação não estava encarado especificamente o problema rural.

As divergências observadas entre os autores são mais aparentes que reais. A unidade terá as atividades necessárias para atender os problemas revelados pelo inquérito e de acôrdo com suas disponibilidades de pessoal e material. Como sempre, estas últimas estando aquém das necessidades, obriga o estabelecimento de prioridades que variam para cada caso. Necessário se torna esclarecer, também, que para uma atividade sanitária não implica necessariamente a existência de um serviço ou pessoal exclusivo para seu desempenho. Dêsse modo, a omissão do registro de algumas atividades, como sejam: enfermagem, assistência dentária, nutrição (tão importante na zona rural) estatística ou outra qualquer, significa apenas que estão incluídas nos demais programas: de higiene da criança, contrôle de moléstias transmissíveis, etc.

Passaremos, em seguida a analisar sucintamente o aspecto administrativo de algumas dessas atividades. Deixaremos de comentar as atividades administrativas bem como a manutenção de dados estatísticos imprescindíveis para o bom funcionamento de um serviço de saúde.

Saneamento do Meio — São consideradas as medidas destinadas a combater o conjunto de fatores que no ambiente material do homem, influem ou são susceptíveis de influir desfavoravelmente sôbre sua saúde. Considerando as condições da vida rural, inegavelmente esta atividade, nas suas diferentes modalidades, assume primordial importância.

As principais causas do quadro verdadeiramente desolador das condições sanitárias do meio rural, segundo os Peritos da O.M.S.⁴⁰ são as seguintes:

- a. contaminação dos abastecimentos de água;
- b. infecção pelo contato direto ou indireto com excretas humanos;
- c. infecções transmitidas por artrópodos, roedores, moluscos e outros animais vetores;
- d. contaminação do leite e outros gêneros alimentícios;
- e. presença de moléstias de animais, transmissíveis ao homem.

Wyman Stone²³ discutindo o assunto no 1.º Congresso Interamericano de Higiene em Havana, distingue dois tipos de saneamento rural: o que se aplica às pequenas coletividades e o que se aplica às populações dispersas. Essa distinção, parece-nos particularmente importante no que respeita ao abastecimento de água e sistema de esgoto.

A questão do abastecimento de água é fundamental, e essa água deve ser tão pura quanto aquela fornecida às populações urbanas. Na zona rural, porém, as dificuldades decorrentes da ausência de sistema de distribuição e tratamento centrais são muito grandes. Na maioria dos casos, essa atividade consistirá, por isso, apenas na proteção conveniente de poços ou de fontes. Nas pequenas comunidades pode-se promover a distribuição, em locais escolhidos, de água proveniente de poços higiênicos e trazida por meio de canalizações para torneiras públicas. É como o SESP solucionou o problema em algumas localidades sob sua jurisdição. Nas cidades de maior população, a solução é a construção de um serviço de água mas caracterizado pela simplicidade de operação e manutenção. Devemos ressaltar que o abastecimento adequado de água não terá apenas a finalidade de fornecer êsse elemento para bebida e manipulações culinárias mas atender, também, outras necessidades como: banho e lavagem de roupa que assumem particular importância nos focos de esquistossomose.

Tão importante quanto o anterior é o destino adequado dos dejetos. Qualquer programa nesse sentido, na zona rural, esbarra, entretanto com o hábito arraigado do nosso homem do campo de evacuar no chão. O programa de instalações de fossas secas ou, quando possível, sépticas, deve ser acompanhada de imprescindível educação do rurícola para obter a sua indispensável cooperação para utilização dessas instalações. O problema se agrava nas vilas e cidades pela maior aglomeração de moradias e conseqüente menor área de terreno de cada casa. O binômio poço-fossa passa a constituir verdadeiro caso de calamidade pública.

No Estado de São Paulo, Tameirão⁵³ em 1953 encontrou 138 sedes de municípios (37,5%) sem serviços de água e esgoto; neste grupo encontravam-se 88 cidades com menos de 2.500 habitantes. Das 231 cidades abastecidas de água, 82 (22,2% do total) não possuíam serviço de esgoto. Das cidades com ambos os serviços (149) apenas 15 tem sua rede de esgoto servindo mais de 90% dos prédios urbanos e 76 com mais de 50% dos prédios ligados a rede de esgoto.

No quadro V elaborado com dados do I.B.G.E.⁹ verifica-se que em 1950, foram recenseados 824.396 domicílios rurais em São Paulo; dêsse total apenas 3,89% procura água encanada, servindo pouco mais de trinta e duas mil pessoas. Providos de aparelhos sanitários existiam 179.508 domicílios, com predominância quase total da fossa comum, 91,7% dos tipos de esgotamento.

Estes dados mostram a vasta extensão do problema no Estado de São Paulo. Nos demais Estados o panorama é idêntico, se não agravado. Para

sua solução, o Governo Paulista criou em 1950 o Departamento de Obras Sanitárias na Secretaria da Viação e Obras Públicas destinado a promover o desenvolvimento do saneamento urbano e rural. Com a assistência técnica desse órgão, aliado ao auxílio financeiro também do Estado, as municipalidades poderão resolver os seus problemas básicos de saneamento. Iniciativa semelhante adotou, em 1953, o Governo Federal permitindo o financiamento das obras pelas Caixas Econômicas Federais: a aprovação dos projetos e orçamentos assim como a fiscalização das obras, ficaram a cargo de SESP o que vem demonstrar o alto nível técnico desta repartição sanitária e sua projeção em todo o território nacional.

Outra modalidade de solução que não poderíamos deixar de mencionar, é a que chamariamos de “mobilização local”, adotada pelo SESP em várias localidades: é a organização dos elementos locais, oficiais e particulares que, com o auxílio técnico daquele órgão, constrói e opera os seus serviços de água.

QUADRO V

Domicílios particulares ocupados e pessoas recenseadas no Estado de São Paulo em 1950 por situação e segundo as instalações existentes.

Condições existentes	T O T A I S				QUADRO RURAL			
	Domicílio	%	Pessoas	%	Domicílio	%	Pessoas	%
Totais .	1 798 735		9 012 124		824 396		4 308 503	
Água encanada	583 693	32,45	2 849 083	31,61	32 110	3,89	169 151	3,93
Ap. sanitário . .	1 109 393	61,68	5 456 132	60,54	179 508	21,77	950 233	22,05
Ligado a rede coletora geral	358 083	19,91	1 735 553	25,31	4 074	0,49	19 516	0,45
Ligado a fossa sanitária	106 447	5,92	524 449	5,82	5 859	0,71	30 314	0,70
Ligado a fossa comum	614 893	34,18	3 048 480	33,83	164 673	19,97	874 235	20,29
Ligada a qualquer outro escoadouro	29 970	1,67	147 600	1,64	4 902	0,59	26 168	0,60

O destino dos excretas animais precisa ser considerado na zona rural, a fim de evitar a contaminação do solo e criação de moscas. O lixo é problema relativamente de menor importância pelo pequeno volume e de solução fácil, pois que a queima ou enterramento, prática perfeitamente viáveis na zona rural, o resolvem de maneira satisfatória. Nas comunidades maiores, há necessidade de organização de um serviço de coleta e transporte com um destino adequado longe das habitações. Nas zonas de industrialização de produtos agrícolas (cana, mandioca, etc.) pode ocorrer o problema do destino dos re-

sídios que deve ser solucionado tendo em vista impedir a poluição dos cursos de água.

A luta contra os agentes vetores de moléstia é medida que se enquadra no programa geral de saneamento. Em certas regiões assoladas por endemias será de primeira necessidade o combate de seus agentes (anofelinos, triatomídeos e outros). Os modernos inseticidas, principalmente os de ação residual, constituem valioso recurso neste setor do saneamento. Geralmente essa atividade é desenvolvida por órgão especializado mas que necessita perfeita coordenação com a unidade sanitária local. Tetzlaff⁵⁴ chama a atenção para o necessário esclarecimento do público para sua participação ativa no programa e não manter-se passivo, quando não raro resistente às exigências sanitárias.

Até aqui comentamos as atividades que o Comitê de Especialistas da OMS⁴⁰ recomenda como primeiras medidas para assegurar condições sanitárias na zona rural e pequenas comunidades.

Quanto à habitação, o problema de sua melhoria, no meio rural, é dos mais difíceis de resolver. Isso porque nêle intervêm múltiplos fatores de ordem econômica-social nem sempre susceptíveis de remoção. Todavia é um objetivo que deve ser encarado, mórmente se considerarmos a íntima relação que existe entre habitação e certas doenças, como a moléstia de Chagas, por exemplo. No relatório sôbre saneamento rural do Congresso Interamericano de Higiene em Cuba, Fonseca e colaboradores²³ recomendam como programa mínimo da melhoria da casa: disposição sanitária dos excretas, água potável e pisos impermeáveis. Outro elemento a ser levado em conta é a promiscuidade com animais dentro das moradias, fato encontrado na zona rural.

Além da habitação, outro prédio poderá desempenhar papel importante no saneamento rural; é a escola. Os ensinamentos aos escolares de hábitos de limpeza, uso de privadas e o perigo de contaminação do solo, diz Pessoa⁴², não terão nenhum valor prático e não convencerão nenhum escolar desde que ministrado em escolas desprovidas de privadas ou que as possuam em condições anti-higiênicas. Castro¹⁵ perfilhando essa opinião assim comenta o assunto: "No Estado de São Paulo, em 1954, existiam 5.956 escolas isoladas rurais (em fazendas, povoados, etc.). Podemos imaginar as condições sanitárias dessas escolas. Encontram-se os sanitaristas em extrema dificuldade para imitar o exemplo de Gottingen, primeira cidade, no princípio do século, a instalar banheiros nas escolas. Os alunos não poderão aceitar conselhos sôbre hábitos de higiene quando a própria escola não lhes oferece facilidades para praticá-los".

O saneamento de alimentos nas zonas sub-desenvolvidas é relativamente pouco importante pela ausência do problema de conservação e armazenamento. Encarado, porém, nas zonas de produção e abastecimento, exige um indispensável controle para evitar contaminações e adulterações susceptíveis de provocar doenças no público consumidor. Devemos ressaltar que a higienização dos gêneros alimentícios só pode ser efetiva se acompanhada das medidas gerais de saneamento. Mais do que a melhor legislação, a educação sanitária tem papel

destacado neste setor, pois o produtor ou manipulador dos gêneros alimentícios esclarecido, colabora na melhoria das condições sanitárias dos seus produtos alimentícios.

Contrôle das Doenças Transmissíveis — Embora na zona rural ocorram, em geral, as mesmas moléstias encontradas na zona urbana, existem algumas que são predominantemente rurais. Às más condições de saneamento, aliada à falta de higiene pessoal, podemos atribuir a elevada incidência dessas moléstias, mórmente aquelas do grupo intestinal. Pessoa⁴³ estudando o problema, aponta um dos obstáculos ao planejamento dos serviços sanitários na zona rural, a carência de dados sôbre as nossas endemias rurais. Poucos são os dados e, na sua maioria de amostras não representativas. Apesar desta falha, ninguém desconhece as inúmeras moléstias prevalentes na zona rural que exigem medidas especiais de combate. Para as demais moléstias infecto-contagiosas a unidade sanitária procederá à investigação epidemiológica sempre que fôr necessário e tomará as medidas adequadas de prevenção. Um programa de imunização deverá ser elaborado de modo a abranger tôda a área rural. A administração de BCG, vacinação contra varíola, difteria, coqueluche e tétano (este assume particular importância na zona rural) deve constituir rotina dos serviços da unidade local; a vacinação contra a febre tifóide e a raiva devem igualmente constar, nos programas rurais.

Assistência Materna e Infantil — Sendo a assistência à gestante relativamente nova, como rotina, não é de admirar-se seja ela ignorada na zona rural. Os partos na sua quase totalidade, ocorrem em domicílio assistidos por “curiosas”, via de regra ignorantes dos mais elementares princípios de higiene. Apenas nas complicações mais graves, o médico é chamado, geralmente quando pouco ou nada pode fazer. Resulta daí, freqüente insucesso de gestação e elevada mortalidade materna. Razões de ordem econômica e social condicionam a preferência da “curiosa” ao médico. Como assinalam Freire e Soares²⁴ em Araraquara, a “curiosa” além de atender a parturiente, substitue-a nos afazeres domésticos, fazendo a limpeza da casa, preparando a alimentação da família, cuidando das crianças, etc. Na impossibilidade da unidade sanitária prover essa assistência, com pessoal habilitado, tem sido sugerido a instrução desses elementos leigos, de modo a assegurar um parto aséptico. O treinamento de parteiras empíricas tem sido posto em prática em diversos lugares com resultados animadores, conforme se verifica nos trabalhos de Hydrick²⁸ em Java, Lidia Barreto⁶ no Paraguai e a equipe de O.M.S.³⁹ no Paquistão. Entre nós, o SESP e o “Serviço Especial de Saúde” de Araraquara adotaram idêntica orientação. Essa medida, entretanto, deve ser considerada, temporária, exigindo um programa de formação de profissionais especializados para essa tarefa.

A assistência à criança, nos seus diferentes grupos etários, enfrenta idênticas dificuldades. A pobreza, ignorância, falta de comunicações etc. são fatores condicionantes da elevada mortalidade infantil na zona rural. A impor-

tância do problema é de tal vulto que a Comissão de Especialistas de Higiene Rural da Liga das Nações⁵² considerava que o trabalho das autoridades sanitárias devia ser julgado, em grande parte pelas atividades de proteção à infância. Sendo essas atividades de natureza essencialmente educativa, somos céticos quanto às possibilidades atuais da assistência pré-natal e à infância sadia na zona rural, pròpriamente dita, dada a carência absoluta de recursos. Voltaremos a analisar o problema quando tratarmos da organização dos serviços. Desejamos, entretanto, salientar que as atividades gerais de saneamento contribuem poderosamente para a melhoria das taxas de mortalidade e morbidade infantis.

Higiene Dentária — A ocorrência de cáries dentárias na nossa população é das mais elevadas. A inexistência da rède de abastecimento de água na zona rural, torna impraticável a medida de fluoretação da água. Restará a aplicação tópica de fluoreto e a assistência odontológica precoce que reputamos de grande importância, principalmente nas áreas com baixo teor de fluor nas águas que a população consome. O SESP tornou-se pioneiro, neste campo, com a instalação de aparelhagem de fluor no Baixo Guandú, Vale do Rio Doce; por outro lado, conforme declaração do seu Superintendente H. M. Penido⁴⁰ higienistas dentárias, dirigidas por um dentista, vem fazendo aplicações tópicas de fluoreto, adotando uma técnica que torna possível a cada uma fazer o tratamento de 2.000 crianças por ano.

Assistência Médica — Apesar da sua importância, não cabe no âmbito deste trabalho uma análise pormenorizada da assistência médica, às populações rurais. O assunto, entre nós, já foi objeto de estudo de vários autores: Alkindar Junqueira²⁹ em 1936, Barros Barreto⁵ em 1938, Mello Freire²⁶ em 1944, Borges Vieira⁵⁵ em 1945, Samuel Pessoa⁴³ em 1949 e, recentemente, foi tema da discussão no I Congresso da Associação Médica Brasileira¹⁷ em Ribeirão Preto. Atualmente não há mais dúvidas, em considerar a assistência médica como atividade de saúde pública. Seguindo o exemplo do SESP, unidades do tipo misto (com assistência hospitalar) foram propostas por Romeu, Cavalcanti e Barcelos⁴⁷ para pequenas comunidades do Estado do Rio de Janeiro e por Lages e Jatobá³⁰ para a zona rural de Alagoas. Mascarenhas e Castro³⁴ são de opinião de que essa assistência deverá ser prestada nos locais desprovidos de organizações médico-hospitalares a ser realizada pela Unidade Sanitária sempre sem prejuízo da medicina preventiva.

A insuficiência ou ausência de cuidados médicos é uma das características da zona rural, assim sendo não será possível a prática de atividades exclusivamente preventivas. Torna-se necessário a prestação da assistência médica geral, sem contar os casos de moléstias transmissíveis onde o tratamento tem finalidade profilática ou então, é a única atividade que até o momento podemos executar, como na leishmaniose tegumentar.

No Estado de São Paulo está se desenvolvendo a iniciativa privada; proprietários rurais organizam serviços médicos cada vez mais completos e melhor

parelhados. Essas iniciativas não se limitam mais a oferecer apenas a consulta médica ao rural doente mas, prestam cuidados às gestantes, dão assistência ao parto, facilitam a hospitalização, cuidam da assistência dentária e alimentar.

Neste setor, verificam-se as maiores resistências a qualquer tentativa de modificação em que o fator econômico nem sempre é dominante; são antes os hábitos e preceitos arraigados que impedem o trabalhador rural se alimentar convenientemente. Aproveitamos a oportunidade para destacar o plano das fazendas Santa Cecília e São Luiz no Estado de São Paulo (Bernardino de Campos e Ipaçu) publicado na "Fôlha da Manhã" de 4-7-1957. Seus proprietários no amplo programa de melhoria social, pretendem instalar uma cozinha central a fim de fornecer, por preço mínimo, aos seus empregados, uma alimentação sadia e equilibrada. Além do natural benefício para a saúde, este plano tem vantagem de oferecer oportunidade para que todos experimentem e se acostumem com vários alimentos até então "tabus" na cultura rural. Sueterem os proprietários das fazendas referidas as idéias defendidas pelo saudoso professor G. H. de Paula Souza que se tornaram realidade nas cozinhas distritais do SESI, onde os operários se "educam" comendo alimentos enriquecidos, verduras, etc. racionalmente planejados por nutricionistas.

Cabe às autoridades sanitárias emprestar todo o apoio possível a essas iniciativas particulares, orientando-as nas medidas de promoção da saúde e prevenção da doença.

Educação Sanitária — Como bem assinalam Candau e Braga ¹¹o baixo nível de instrução, aliado ao elevado grau de analfabetismo da nossa população rural, constituem sérios óbices para execução de adequado programa de educação sanitária. Desnecessário será encarecer o seu papel nas atividades de saúde pública e, nos itens anteriores, repetidamente salientamos sua importância. Nos trabalhos sobre os mais variados assuntos de saúde pública, em todos os seminários ou Congressos de higiene vem sendo ressaltado o papel da educação do público para obtenção do êxito das tarefas sanitárias. Apesar dessa unanimidade de opinião, porém, os frutos têm sido lamentavelmente escassos. A falta de pessoal de saúde pública, e de continuidade nos programas; a ênfase da instrução individual, isto é, o contato do funcionário com o cliente, seja no serviço, seja no domicílio, uns poucos cursos para pequenos grupos na unidade sanitária; a superestimação do papel da escola primária; a simples distribuição de material de propaganda, têm contribuído para o relativo fracasso dos programas. O público permanece passivo e mais ou menos alheio às organizações sanitárias.

Mas as causas de maior importância são, a nosso ver, de outra natureza. Falta consolidar o conceito de que a educação sanitária é processo de aculturação que trata de "modificar idéias, sentimentos e conduta, ou mais correntemente, de inculcar hábitos considerados favoráveis ao desenvolvimento da saúde". Esquecemos que nessa expressão, o último termo é adjetivo e damos

demasiada importância às informações de caráter técnico científico. Por outro lado, pesquisas sociais e antropológicas recentes têm evidenciado o valor do conhecimento das comunidades onde a unidade sanitária vai agir; a introdução de práticas e noções relativas à saúde deve ser feita com um mínimo de conflito com os costumes e práticas locais. Nesse sentido, comenta G. Pierce⁴⁴: “Nos casos em que os melhoramentos sanitários se adaptam às formas culturais existentes, sua aceitação é geral e rápida. Os lavadouros públicos servem para lugar de reunião da coletividade além de proporcionar um meio mais higiênico e eficaz para a lavagem da roupa do que a margem do rio ou as tinas que as substituíram, por isso, esses melhoramentos são aceitos rapidamente e de boa vontade. Ao contrário, as instalações sanitárias, às vezes, tem permanecido sem uso porque representam uma modificação em um hábito social fundamental”. Estes fatos avultam nas zonas rurais onde a cultura dos profissionais de saúde pública encontram natural resistência na cultura local. Nesta situação, como ressalta Derryberry²² “a hábil aplicação das ciências sociais é tão essencial para obter sucesso, como o emprêgo adequado das ciências sanitárias”. A maior divulgação dos princípios e métodos educativos através das publicações da OMS, UNESCO e de vários especialistas, têm facilitado aos nossos sanitaristas uma revisão das técnicas adotadas, visando melhor aproveitamento do trabalho do nosso escasso pessoal profissional. Para a Comissão de Peritos da O.M.S.³⁸ em educação sanitária: “O educador — seja médico, enfermeiro, professor, técnico de saneamento, etc., — tem por função estimular o interesse, desenvolver a compreensão e inculcar noções, graças às quais o indivíduo, em uma dada situação, poderá levar uma vida sadia”. Assim sendo, a orientação e utilização de líderes locais representa a maneira mais rápida e prática para promover as mudanças no sistema de vida das populações rurais, necessárias à obtenção da saúde.

Para que êsse trabalho seja realmente eficiente, é preciso a participação de um técnico em educação sanitária para melhor identificação dos problemas, orientando e auxiliando a equipe no planejamento e execução dos programas de saúde pública, garantindo a contínua e necessária aplicação dos métodos educativos.

O Problema Social — Referindo-se as atividades do S.E.S.P. que atinge praticamente todo o Brasil, assim manifestou-se, recentemente, o experiente e acatado Superintendente Dr. Maia Penido⁴⁰: “Compreendemos depois de suadas experiências que saúde pública não é apenas um conjunto de técnicas, mas uma atividade social que se deve colocar em harmonia com o nível geral da sociedade em que se desenvolve”.

A extensa literatura geral e especializada, e constantes artigos e reportagens de jornais e revistas, tornaram bastante conhecida a vida rural nos seus múltiplos aspectos. A contribuição da antropologia e sociologia no estudo dessas questões veio esclarecer certos resultados paradoxais no trabalho de serviços especializados na área rural, impondo a necessidade de uma revisão de programas.

Desnecessário se torna, portanto, encarecer a necessidade dos problemas rurais serem encarados como um todo, cuja solução é social e não exclusivamente econômica, agrária, educacional, ou médico-sanitária. Neste passo, não podemos deixar de ressaltar os trabalhos do “Seminário Latino Americano de Bem-Estar Rural” realizado na Universidade Rural, Brasil em 1953. A participação de vários especialistas nessa reunião, relatando iniciativas e experiências em baixos países latino-americanos, Egito e Costa do Ouro, representa uma valiosa contribuição para o estudo da solução do problema da assistência ao rural. São bastante expressivas as palavras de Gonçalves de Souza ⁴⁹ na “Apresentação” dos Anais daquele seminário:

“As experiências relatadas no Seminário, sobre a promoção de projetos e programas de bem-estar para as populações do campo, evidenciaram a absoluta necessidade de serem estes projetos e programas considerados de forma integrada. De pouco adianta — mostraram os técnicos presentes à reunião — iniciar obra no plano meramente econômico, no setor exclusivo da saúde, alimentação, educação especializada, agricultura, economia doméstica, etc., cada qual isolado, ou de per si. Em casos sem conta, especialmente nas áreas sub-desenvolvidas, onde os aspectos da vida e suas três dimensões — material, social e espiritual — coexistem, será inútil atacar apenas uma das facetas do problema, pois assim jamais poderia ter êle a desejada solução.

Problemas das comunidades rurais têm de ser atacados de forma conjugadas”.

A assistência sanitária rural deve, ser prestada simultaneamente com outros tipos de assistência. Não mais no sentido paternalístico como quase sempre se revestiu, até hoje, mas como um programa educativo, como trabalho de comunidade para que a população rural possa alcançar, por seu próprio esforço, um padrão de vida que assegure o gozo do melhor estado de saúde possível.

Nesse sentido a assistência social, que está praticamente ensaiando seus primeiros passos, tem neste campo imensas responsabilidades, e a Saúde Pública não pode ignorá-la ou prescindir de seus serviços. Ao Assistente social cabe a tarefa de ajudar os indivíduos e grupos a compreender seus problemas, orientando-os na organização de esforços para sua solução.

A melhoria das condições de bem-estar da população rural, implica no conhecimento de seus componentes, e na compreensão e interpretação devida do seu comportamento. Para isso, a colaboração do antropólogo torna-se indispensável no levantamento de dados, descoberta dos “elementos chaves” ou na identificação de pontos fracos do trabalho. Quanto maiores as diferenças culturais, ou distinção de classe social, entre o pessoal do programa e a população beneficiada; e naqueles projetos relacionados com alterações dos hábitos huma-

nos enculturados, afirma Richard Adams¹ mais útil será o auxílio de um antropólogo ou psicólogo social. “Estes não são os únicos casos em que o trabalho dos especialistas em ciências sociais é útil, mas se existem tais situações, é indicação evidente de que os serviços desse especialista serão valiosos ao projeto”.

Por isso, o trabalho rural por elementos citadinos não pode dispensar essa colaboração, o que vem se verificando em diferentes programas de assistência na América Latina; entre nós, o S.E.S.P. possui uma seção de pesquisas sociais para auxiliar o desenvolvimento de suas atividades.

IV — ORGANIZAÇÃO DE SERVIÇOS

A organização de um Serviço de Saúde Pública ou de Assistência Médico-Sanitária para a zona rural, depende fundamentalmente das características locais da região na qual vai servir. Atualmente, como já salientamos, é ponto pacífico considerar o serviço de saúde pública como somente um dos aspectos do planejamento local para o bem-estar de uma comunidade. São de igual importância serviços ou atividades que visam as exigências agrícolas, a educação, estabilidade econômica e outras finalidades. Será portanto de máximo interesse, para o bom êxito de um programa de saúde, que êle fôsse bem equilibrado e não se resumisse em uma série de esforços isolados, cujo rendimento geral, ficaria aquém do que seria de se esperar.

Importante sob todos os aspectos, vem a ser a coordenação em saúde pública; isto é, a obtenção da cooperação da comunidade que vai ser servida, com os serviços de saúde, através não só de seus componentes individuais, mas também de suas Instituições, numa conjugação de esforços para atingir um objetivo comum. Neste sentido, será útil transcrever a opinião da Comissão de Higiene Rural da Liga das Nações⁵²:

“Em suma, a política médico-social deve sobretudo procurar obter a coordenação de atividades e instituições. Suas origens variadas e finalidades diversas, impõem respeitar nelas a iniciativa criadora, mas serão levadas a incluir-se numa ação ajustada, segundo um programa bem ordenado, adotado às condições e necessidades locais.

Por outro lado, a essa coordenação sobre o campo e por assim dizer, no espaço, deverá ajustar-se a filiação, isto é, uma coordenação no tempo, das diferentes atividades médico-sociais, assegurar de modo contínuo a proteção eficaz do ser humano em tôdas as idades e face a todos os agravos que podem atingi-lo.

Nisso, com efeito, se encontra a dificuldade, mas também a chave do sucesso; é necessário que o conjunto de instituições de tratamento, o conjunto de instituições preventivas e a hierarquia dos serviços sanitários se articulem e se interpenetrem para formar um

todo coerente, orientado para os mesmos fins. Um trabalho considerável de organização e coordenação é preciso para congregar estes elementos esparsos, mas somente êle pode conduzir à meta almejada”.

Um exemplo desta coordenação foi bem demonstrada em Araraquara, por Péricles Freire e colaboradores²⁵ com o “Serviço Especial de Saúde” daquele município.

A questão da área e da população que em determinado serviço vai atender, não pode ser estabelecida *a priori*, tudo dependendo das condições locais em relação aos fatores já mencionados. De qualquer maneira, qualquer que seja a área e a população escolhida, o serviço de saúde deverá executar um programa de saúde integral, no sentido de fornecer os serviços básicos e estimular a cooperação e o interesse da população para o objetivo visado.

Tem sido ideados vários tipos de organização para atender o meio rural. Levando em conta o modo de funcionamento em geral, poderemos dividi-los em dois grupos: unidades móveis e fixas.

Unidades móveis — São encontradas naqueles serviços que pretendem assistir à população rural de maneira itinerante, isto é, deslocando-se pereneamente na área de atividade, percorrendo-a periódicamente. Tais unidades são geralmente constituídas por uma equipe de profissionais que, utilizando-se de um meio de transporte adequado à região, viajam pela zona rural, a fim de prestar, aí, os seus serviços.

A utilização desse tipo de organização tem seus defensores entusiastas, e foram adotadas em várias partes do mundo. No que concerne à América do Sul podemos citar alguns exemplos: No Peru, segundo Bustamante y Rivero¹⁰ existe: a Unidade assistencial móvel para “prestar serviço ao longo da Estrada Panamericana (zona asfaltada), incluindo cuidado dentário, prevenção de moléstias evitáveis e divulgação sanitária; o Serviço Sanitário Aéreo para levar a ação sanitária assistencial a tôdas as zonas acessíveis do país com rapidez que a urgência dos casos exija. Na Venezuela encontram-se unidades flutuantes móveis de assistência médica e as unidades móveis de assistência odontológica, oftalmológica e oto-rino-laringológica; para Gonzales²⁷ diretor geral de Saúde Pública daquele país, não são em realidade unidades sanitárias móveis; foram criadas para prestar assistência médica, geral e especializada à certos grupos de população muito dispersa do país. O S.C.I.S.P. do Uruguay, conta com uma unidade móvel que consiste em um ônibus moderno equipado para exames radiográficos coletivos e para imunizações; segundo informa Cappelletti¹³ realiza controle tuberculínico e roentgenfotográfico e a aplicação de B.C.G. e, em determinados lugares faz imunizações contra a varíola, difteria e coqueluche; efetua também propaganda sanitária relativa à prevenção da tuberculose.

No Brasil, tem sido proposto, também, vários tipos de equipes móveis ou volantes. No Paraná, Ribeiro⁴⁶ após utilizar uma unidade móvel para o combate às moléstias venéreas, propôs uma equipe constituída por um médico, uma visitadora, um guarda sanitário, um microscopista e o motorista; aconselha também que se acrescente um dentista. O veículo seria uma camioneta tipo "furgão". O regime de trabalho seria de 20 dias mensais, ficando o restante do tempo destinado a descanso, reparo do veículo e feitura de relatórios. No Rio Grande do Sul, Carneiro e Netto¹⁴ propunham instalarem uma unidade médico-sanitária-assistencial em composição ferroviária para atender às populações rurais tributárias da rede ferroviária, atingindo 54 dos 92 municípios daquele Estado; o pessoal seria composto de: médico-chefe, médico auxiliar, dentista, dietista, assistente social, visitadora sanitária, laboratorista, oficial administrativo, 4 atendentes e 2 serventes. Em Goiás, segundo Silveira e colaboradores⁵⁰ criou-se o Serviço Itinerante de Saúde (SIS) que utiliza unidades de saúde e postos itinerantes. Cada posto funciona sob a chefia de um médico, auxiliado por um dentista, podendo ter outros servidores; o veículo é o avião. Cada unidade de saúde fixa, servida por um guarda sanitário, é visitada periodicamente pelo posto itinerante. Recentemente o Ministério da Saúde criou igualmente um serviço itinerante para percorrer de avião as regiões mais afastadas do País e ali prestar assistência médica.

Para atender problemas específicos da zona rural, foram utilizadas também, unidades móveis. Segundo Aquino³ a Divisão de Organização Sanitária do Departamento Nacional de Saúde idealizou e utilizou equipes móveis para atender ao problema da boubá. No Estado de São Paulo, o Serviço de Profilaxia da Malária possui postos instalados em vagões de Estrada de Ferro; existem subpostos rurais móveis para combate ao tracoma; e o Departamento Estadual da Criança utiliza-se também de unidades móveis seja ferroviária, seja em automóvel para atender a zona rural.

Ainda em São Paulo foram propostos e utilizados sistemas de unidades móveis não mais para atender problemas específicos mas sim para prestar assistência médico-sanitária à população rural; deles trataremos mais adiante com maiores pormenores.

Unidades fixas — São utilizadas pelos Serviços que pretendem fixar o elemento de saúde pública na zona que êle vai servir; êsse ou êsses elementos residentes, exercem a sua atividade pré-estabelecida auxiliado por equipe de órgão distrital.

A Comissão de Peritos de O.M.S.⁴⁰ descreve, o Serviço de Saúde local, dirigido por médicos e, com finalidade de atender a zona rural; é constituído de Centros de Saúde, os quais podem incluir, se necessário, centros secundários distribuídos em diversas comunidades da área. Os centros de saúde fazem parte integrante do serviço local de saúde. O pessoal pode ser composto de auxiliares especialmente preparados, sob direção de enfermeira ou parteira com formação de saúde pública. Para tornar mais acessíveis às famílias

certos serviços essenciais, poderão ser criados centros secundários para prestar serviços simples. Onde houver serviços médicos assistenciais oficiais ou particulares deverão ser feitos esforços para coordená-lo ou mesmo si possível, integrá-los na unidade sanitária local.

Quanto às atividades especializadas, quando necessárias, devem ser providas pelo órgão distrital cujos técnicos poderão ir periódicamente à unidade. A assistência hospitalar será prestada por meio de um sistema de cooperação com as instituições do gênero existentes na área; para isso, torna-se indispensável um programa de assistência hospitalar com rede de hospitais adequadamente localizados.

Esse tipo de unidade fixa, que constitui inegavelmente a tendência moderna de Saúde Pública para atender à zona rural, vem sendo preconizada por vários autores, entre nós, e adotada em vários Estados; em São Paulo, o Serviço Especial de Saúde de Araraquara serve de paradigma.

Considerações Gerais — Os dois tipos de organização têm seus defensores: as vantagens ou desvantagens dependerão do programa a ser executado e principalmente das condições da região a ser servida. De um modo geral, será sempre aconselhável a adoção de unidades fixas por razões de caráter técnico-administrativo.

As unidades móveis são serviços de manutenção cara. Nelas a continuidade não existe; mesmo que a visita seja periódica, a população não terá onde socorrer-se em qualquer emergência ou caso de dúvida. Cuidam quase que exclusivamente da assistência médica. O programa educativo restringe-se apenas à divulgação sanitária. Finalmente, ficam sujeitas sempre ao fator condução; qualquer contratempo, impedindo a locomoção da unidade, todo o sistema esboroa-se, acarretando o descrédito e motivando maior inércia das populações pela incerteza que se estabelece. Mazzei e Merlo³⁴, analisando o problema no Rio Grande do Sul, tecem os seguintes comentários:

“Os serviços móveis utilizando as estradas de rodagem, são, dos três, o de maior penetração. Cabe lembrar, entretanto, além de outros fatores negativos, o elevado custo do material usado e a impraticabilidade da maior parte das nossas linhas e travessões.

Por via fluvial, o serviço seria, sem dúvida, menos oneroso, mas aproveitaria apenas às populações ribeirinhas.

O serviço ferroviário é de todos, o que pode oferecer um conjunto mais completo, dada a possibilidade de uma montagem mais extensa. Há, entretanto, a considerar nesse serviço o custo da montagem e sua unilateralidade, pois só serviria à rarefeita população rural ao longo da via férrea.

Esses três sistemas têm, ainda, um grave inconveniente em comum: prestar serviços a longo prazo. Nenhum preenche as reais necessidades do homem do campo”.

Nas unidades fixas, os elementos residentes no local e encarregados de uma determinada área, asseguram a continuidade da ação do serviço; as atividades desses elementos são pré-determinadas, dentro de certos limites e, supervisionados, assegurando dessa maneira, maior eficácia, com despesas relativamente menores.

Certos serviços volantes são mistos, com atividades ligadas à agricultura ou outra natureza. Esse fato poderá provocar interferência de outros técnicos estranhos às atividades sanitárias, com os inconvenientes decorrentes: dualidade de mando ou de orientação, conflitos de jurisdição e outros.

Somos, pois, francamente favoráveis à criação de unidades fixas, estrategicamente instaladas, com ação rural, formando rede distrital. As unidades móveis somente serão utilizadas em situações especiais (calamidade pública, regiões pouco habitadas) para realização de tarefas restritas, tais como: inquéritos e vacinações, sempre que possível, articuladas com as unidades fixas. Com essa opinião, nada mais fazemos do que esposar as conclusões do IX Congresso Brasileiro de Higiene¹⁸ realizado em Pôrto Alegre, reiteradas nos X e XI Congresso de Belo Horizonte¹⁹ e Curitiba²⁰.

V — SITUAÇÃO NO ESTADO DE SÃO PAULO

A organização dos serviços de saúde pública tem merecido diversos estudos, alguns dos quais resultaram projetos e tentativas para prestar assistência à população rural. A Constituição Estadual de 1947 dispõe enfaticamente sobre a assistência médica, hospitalar, farmacêutica e dentária, gratuita ao trabalhador rural, como si o Estado estivesse capacitado para sustentar sozinho essa ciclópica empresa.

Diversos serviços de saúde pública têm procurado estender aos municípios do interior do Estado, suas atividades. Dentro da Secretaria da Saúde e Assistência Social a repartição legalmente encarregada de prestar assistência sanitária no interior é a Divisão dos Serviços do Interior (D.S.I.) do Departamento de Saúde, que tem procurado instalar Centros de Saúde e Postos de Assistência Médico-Sanitária (PAMS) em todos os municípios paulistas. Em virtude, porém, da existência de órgãos especializados com serviços de assistência direta ao público, vamos encontrar unidades especializadas nas cidades do interior. Assim, além dos centros de saúde e "PAMS", existem os dispensários de tuberculose e lepra, postos e sub-postos de tracoma e malária, postos de puericultura, além de gabinetes dentários e serviços de saúde escolar diretamente subordinados, êstes dois últimos, à Secretaria da Educação.

Não é nosso objetivo, analisar essa situação, estudada já por Mascarenhas³³ e Castro¹⁶; apenas, sob o aspecto da assistência rural, devemos assinalar que, com exceção das unidades de tracoma e malária, as demais desprovidas de visitadoras e meios de transporte, atendem na sua quase totalidade, os habitantes da zona urbana e somente, quando procuradas, pequena parcela da

população rural. Diante dêste estado de coisas, foram planejados serviços para atender especificamente a zona rural do Estado e que passaremos em revista.

Serviço Especial de Saúde de Araraquara (S.E.S.) — Criado pelo Decreto-lei 17.352, de 22 de Julho de 1947, tem por finalidade, além de unidade sanitária local, servir como campo de experimentação e demonstração de técnica sanitária, assim como, para treinamento de pessoal de saúde pública.

A escolha do referido município se fez após adequados estudos em que foram levados em consideração: a iniciativa particular, facilidade de acesso, produção, subdivisão de propriedades e população. Precedeu a fundação do serviço, um inquérito geral, destinado a revelar os problemas básicos do município. O SES está subordinado à Diretoria Geral do Departamento de Saúde da Secretaria da Saúde e Assistência Social e tem como órgão orientador, um Conselho de Saúde. Êste é constituído pelos seguintes membros: o Diretor Geral do Departamento de Saúde, o Diretor da Divisão do Serviço do Interior, o Professor Catedrático de Técnica de Saúde Pública da Faculdade de Higiene, o Professor Catedrático de Parasitologia Aplicada e Higiene Rural da mesma Faculdade, e o Prefeito Municipal de Araraquara. O planejamento e orientação das atividades de ensino e pesquisa cabem à Cátedra de Parasitologia Aplicada e Higiene Rural.

O S.E.S. tomou a seu cargo a execução de tôdas as atividades sanitárias, em Araraquara, até então executadas pelos serviços estaduais de saúde. Não nos deteremos, aqui, em descrever essas atividades, apenas ressaltamos que, como unidade polivalente e dinâmica, executa tôdas as atividades próprias de um Centro de Saúde. Para detalhes, a êsse respeito, sôbre o S.E.S. recomendamos o trabalho de Freire e Soares ²⁴.

Passaremos em revista alguns aspectos das atividades executadas pelo S.E.S. na zona rural.

Para melhor atingir a população rural, conforme o Gráfico I, foram instalados quatro sub-centros nos sub-distritos de: Santa Lúcia, Américo Brasileiro, Motuca e Gavião Peixoto, e estão programados mais um sub-centro no distrito de Bueno de Andrade e três no distrito da sede.

Área dos distritos e a população estimada para 1956:

Araraquara	824 Km2.	53.652
Américo Brasileiro	129 "	2.021
Bueno de Andrade	184 "	1.020
Gavião Peixoto	243 "	2.859
Motuca	224 "	1.418
Santa Lúcia	161 "	1.757
<hr/>		
Total	1765	62.727

SERVIÇO ESPECIAL DE SAÚDE
ARARAQUARA
CENTRO DE SAÚDE E SUBCENTROS
EXISTENTES E PROJETADOS



Os prédios construídos especialmente para esses sub-centros, contam com dependência para as clínicas, residência para enfermeira, terreno destinado ao plantio de verduras e privadas de diferentes tipos para demonstração.

Em princípio, cada sub-centro tem a seu cargo a execução de todas as atividades do Centro do qual são dependentes, atendendo às condições locais. O elemento humano primordial desse sub-centro é a enfermeira.

A enfermeira residente tem obrigação de desenvolver, junto às famílias da área, todas as atividades sob sua responsabilidade. No que concerne à higiene materna, tem sido recomendada a inclusão de uma enfermeira obstétrica ou parteira nessas unidades. Todavia, em virtude do encarecimento do serviço com essa providência, resolveu-se colocar essa profissional na Unidade Central, de onde poderá atender toda a região. A enfermeira residente supervisiona as "curiosas" dentro do programa que já tivemos oportunidade de relatar; encarrega-se também dos programas de higiene da criança, procuran-

do ensinar as mães como cuidar de seus filhos. Dentro desse programa educativo, trabalham para despertar o interesse e conseguir a participação do público. Através dos líderes locais, nos seus contactos individuais ou trabalho de grupo, (Clube de rurais, Clube da saúde, etc.), influem por tôdas as maneiras na promoção da saúde do público em geral.

Outro elemento de grande importância no desenvolvimento do programa desses sub-centros é o inspetor sanitário que pode ou não ser residente na área. A êle está atribuída a execução do programa de saneamento. Supervisionado pelo engenheiro sanitário da sede, promove as várias atividades de saneamento tais como: construção de fossas, abertura de poços, cuidados com alimentos principalmente o leite, remoção do lixo, combate às moscas etc., e prepara a população para receber a dedetização sistemática das habitações.

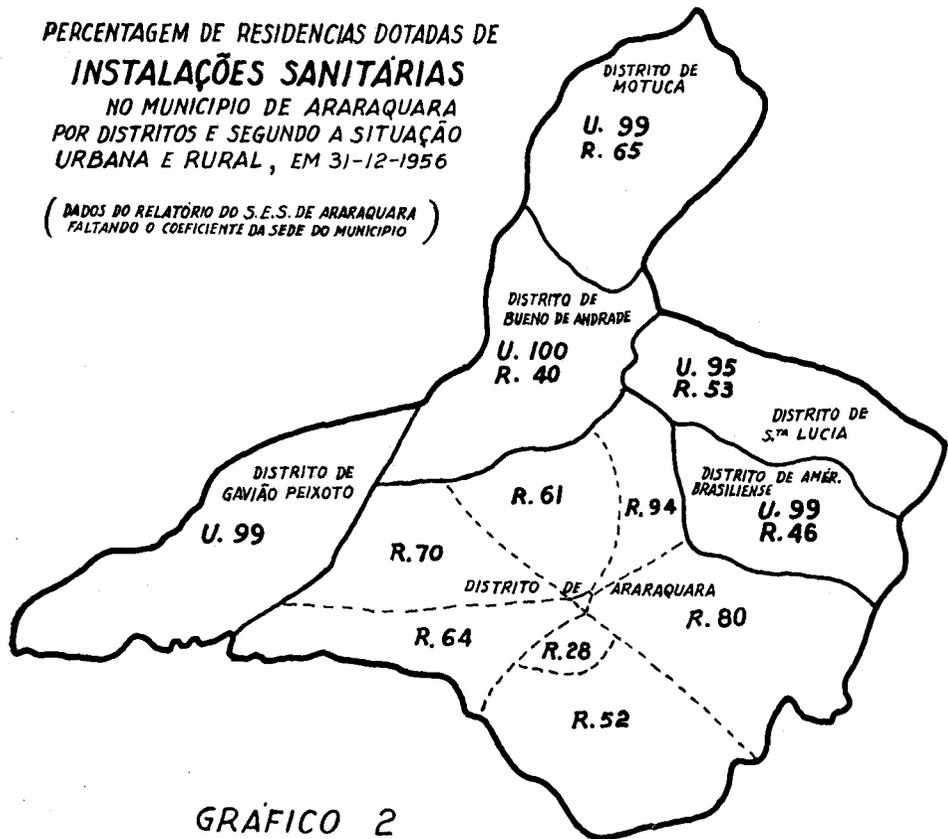
O médico comparece periodicamente para prestar cuidados de medicina preventiva e curativa, atendendo os casos selecionados pela enfermeira residente. Quando necessário, o caso, poderá ser encaminhado à unidade central. O dentista também atende periodicamente às necessidades locais em ambiente previamente preparado pela enfermeira.

Como parte do programa geral, do Centro de Saúde Central, a região dos sub-centros é visitada pela equipe de saúde pública: médico, engenheiro e veterinário para inspeção e supervisão necessárias.

Apresentaremos alguns dados que podem revelar a penetração alcançada pelo Serviço na área rural, apesar das dificuldades que teve de enfrentar em 1956:

1. *Sub-seção de higiene materna.* Total de gestantes atendidas 39,54%. Os sub-centros apresentaram as seguintes percentagens: Américo Brasiliense 66,98%; Santa Lúcia 78,30%; Motuca 48,0% (sem enfermeira residente em 1956); Gavião Peixoto 81,15%. Cada gestante recebeu em média 3,3 exames médicos na zona rural e 3,7 na zona urbana. Em Américo Brasiliense 46,03% das clientes acudiram ao Serviço nos 3 primeiros meses de gravidez e 30,16% entre o 4.º e 6.º mês; Santa Lúcia 38,36% e 36,99%; Motuca 43,03% e 30,17%; Gavião Peixoto 35,52% e 42,10% até o 3.º mês de gestação e entre o 4.º e 6.º mês respectivamente.
2. *Sub-seção de higiene infantil.* Das crianças atendidas 28,45% eram da zona rural e receberam em média 2,9 consultas.
3. *Sub-seção de higiene escolar.* Dos escolares atendidos pelo serviço 22% eram da zona rural.
4. *Visitas domiciliares.* Foram feitas 10.748 visitas na zona rural, representando 42,92% do total dessa atividade.

5. *Saneamento.* O Gráfico II mostra a percentagem de residências dotadas de instalações sanitárias, distribuídas por distritos e segundo a situação urbana e rural. Esses dados demonstram o trabalho desenvolvido pelo Serviço no saneamento do meio.



Serviço Agro-médico-sanitário rural — Este Serviço, conforme Maragliano³² nasceu de entendimentos entre a Divisão do Serviço do Interior e da “American International Association”, instituição que tem por finalidade introduzir modernas práticas de agricultura e pecuária, no sentido de promover maior rendimento no trabalho agrícola.

Como área experimental foi escolhido o Município Santa Rita do Passa Quatro, onde organizou-se um Serviço subordinado à unidade local destinado a prestar assistência agrícola e médico-sanitária ao homem do campo. Para a prestação desta última atividade, organizou-se uma equipe volante constituída por: um médico, uma enfermeira de saúde pública, um dentista e um motorista. O veículo era do tipo “furgão” apropriado para o transporte do pessoal e do material indispensável.

Na área rural do referido município, estabeleceram-se diversos pontos de concentração, onde em dia e hora pré-determinada, a equipe deveria compa-

recer e assistir a todos os moradores em um raio de 3 quilômetros no máximo atendidos 12 dêesses pontos, com passagens quinzenais, trabalhando a equipe em regime de 6 dias por semana, sempre no período da manhã.

De um modo geral, as atividades dessa equipe eram as seguintes:

1. vacinação em geral e adequada a cada grupo etário;
2. assistência médica e dentária;
3. assistência às endemias e educação sanitária;
4. higiene infantil e pré-natal;
5. saneamento.

Ao lado do trabalho desenvolvido pela equipe sanitária, desenvolve-se simultâneamente o programa do técnico de agricultura.

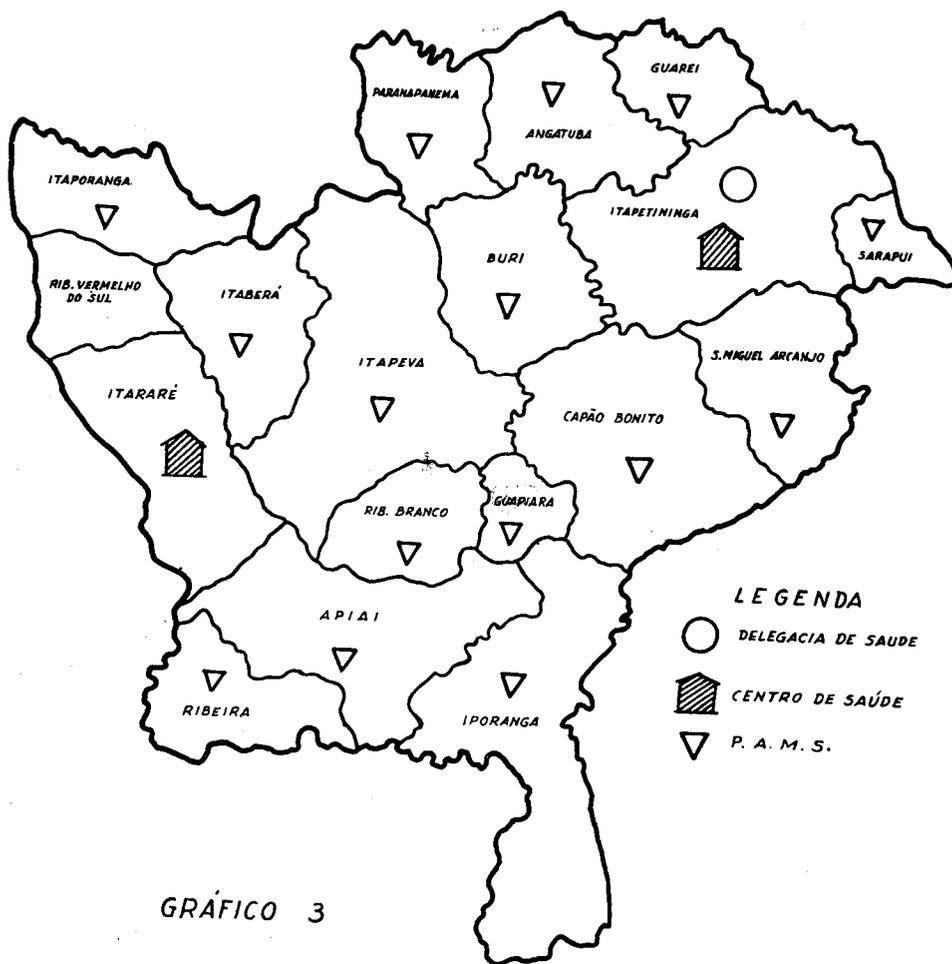
A D.S.I. desenvolveu êste plano, estendendo-o à outras localidades; dentro do convênio com A.I.A. foram instaladas duas equipes em Santa Rita e duas em São José do Rio Pardo. Posteriormente organizaram-se os serviços em: Casa Branca, Pirassununga, Franca, Ribeirão Prêto, Piracicaba, São Manuel e Bragança, desenvolvendo um programa semelhante ao plano piloto, porém sem a colaboração da A.I.A.

A atual política econômica do Govêrno do Estado, obrigou a cessação das atividades de tôdas estas unidades volantes.

Plano de Itapetininga — Êste plano nasceu de uma correição realizada pela Divisão do Serviço do Interior e mereceu a aprovação do Sr. Governador do Estado, mas ainda não foi posto em execução. A Delegacia de Saúde de Itapetininga que compõem-se, conforme mostra o Gráfico 3 de dois centros de saúde e quinze PAMS, sofreria uma nova divisão em seis Distritos Sanitários de acôrdo com o Gráfico 4, cada um deles compreendendo um município-sede e municípios agregados.

No município-sede seria instalada a Unidade Sanitária (Centro de Saúde) suficientemente aparelhado em pessoal e material para prestar a assistência médico sanitária a tôda a área do respectivo distrito; para isso teria uma equipe móvel. Os municípios agregados contariam com um posto de saúde com pessoal subalterno (fiscal, atendente e servente) permanente e, seria visitado periódicamente pela equipe volante.

A equipe volante, de início seria constituída por um médico e fiscais sanitários um dos quais seria motorista do veículo; posteriormente poderiam ser incluídos na equipe: dentista, educadora sanitária, enfermeira, etc. O roteiro dessa equipe foi traçado de maneira tal que ela poderia voltar ao mesmo local decorrido 4 semanas.



Quanto às atividades a serem executadas, seriam de preferência: (a) assistência médica e posteriormente dentária; (b) educação sanitária com auxílio da professora local; (c) combate às endemias, verminose e moléstia de Chagas (no Vale de Paranapanema, região de Angatuba principalmente) e (d) saneamento, com programa de fossas.

Serviço Agro-médico-social — A Lei Estadual n.º 1.983 de 19 de dezembro de 1952 criou no Estado de São Paulo, o Conselho Estadual de Assistência ao Trabalhador Rural (CEATRU) na Secretaria de Saúde Pública e Assistência Social. Este Conselho destina-se a prestar assistência médica, odontológica, farmacêutica e hospitalar ao trabalhador rural, e é composta de vários membros presididos pelo Diretor do D.S.I. da referida Secretaria. O artigo 3.º dessa lei, estipula que a assistência ao trabalhador rural será fornecida por intermédio das Unidades Agro-médico-sociais a serem organizadas pelo Conselho, as quais atenderão a um número máximo de 5.000 trabalhadores.

Em última análise, a Lei 1.983 criou mais um Serviço para atender o trabalhador rural, (população rural?) o SAMSO que está sendo objeto de estudos pelo CEATRU. Em 1956 foi discutido um projeto de regulamentação que segundo Coutinho²¹ apresenta os seguintes pontos fundamentais:

1. Criação na Divisão do Serviço do Interior de um *Órgão Central* permanente, com sede na Capital, destinado a promover a execução do trabalho assistencial, informar o Conselho do andamento do serviço, determinar, com base em reconhecimentos prévios, as áreas a serem trabalhadas e sugerir medidas para melhor execução do serviço. Deverá ser composto de elementos peritos em trabalhos assistenciais: médico sanitarista, engenheiro sanitarista, enfermeira de saúde pública, dentista, agrônomo com prática em pequenas organizações agrícolas, educadora sanitária, obstetritz, todos com prática em trabalhos rurais; pessoal técnico administrativo.

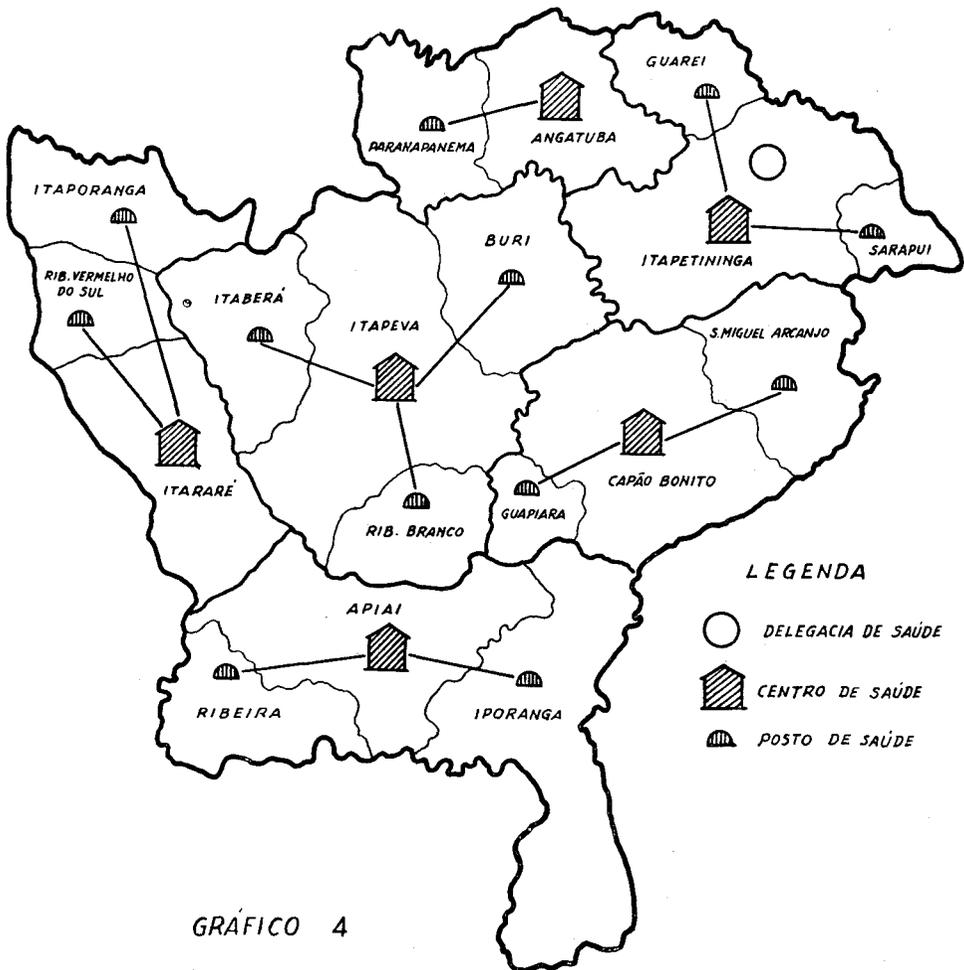


GRÁFICO 4

2. Criação de *Órgãos Técnicos Regionais*, dentro das Delegacias de Saúde, com a finalidade de descentralizar os trabalhos do Órgão Central. Esse órgão seria constituído por: médico sanitarista, engenheiro sanitarista, obstetrix, inspetor sanitário, educadora sanitária e escriturário.
3. Criação de *equipes municipais de assistência rural*, dentro dos municípios que estabelecerem acôrdo com o CEATRU, e constituídas de elementos preferivelmente locais e prèviamente diferenciados. O município a ser trabalhado será dividido em *Unidades Rurais* as quais serão instaladas em vilas, povoações ou sedes de fazendas e deverão ter aos seus cuidados uma população aproximada de 5.000 habitantes. Tais unidades serão de dois tipos: (a) Unidade rural fixa com uma visitadora rural, um monitor agro-sanitário, um auxiliar atendente e um hortelão e encarregado do meio de transporte; (b) unidades médico-odontológicas com médico de consulta, dentista, auxiliar de escritório e motorista para o meio de transporte. Estas unidades terão sede fixa e seus elementos técnicos deverão locomover-se para a zona rural a fim de dar as respectivas clínicas.

As atribuições dêsse Serviço serão as seguintes: dar assistência médica à população da área trabalhada; dar assistência odontológica visando a remoção de focos e se possível orientar a profilaxia da cárie da população infantil; promover dentro das possibilidades a assistência materno-infantil; promover os meios necessários para a prevenção das doenças evitáveis através de imunizações e higiene da habitação; promover a organização das comunidades rurais; incentivar a formação de clubes educativos e recreativos, bem como incutir na população a educação sanitária; orientar a população no sentido de melhorar a alimentação promovendo a formação de hortas, pomares e criação de animais domésticos, fontes de alimentos; promover o ensinamento básico de economia doméstica.

Vemos que, embora a Lei disponha: "A assistência médica, odontológica, farmacêutica e hospitalar do *trabalhador rural*..." trata-se de um Serviço que prestaria à população da zona rural, boa parte de assistência de medicina preventiva e assistência sanitária.

Considerações gerais — Pelo exposto, verifica-se que no Estado de São Paulo foram criados ou planejados quatro serviços para atender a população rural. O SES de Araraquara com um programa integral de saúde pública capaz de assistir tôda a população do município. O Serviço Agro-médico-sanitário rural (Santa Rita) que seria um prolongamento da unidade local, transformou-se em unidade volante com os inconvenientes que já apontamos; além disso a participação de técnicos subordinados à diferentes Secretarias de Estado, provocou o espírito de competição e divergências no programa que deveria ser comum. É de se notar que apenas a unidade de Casa Branca funcionou com equipe completa mas sem enfermeiras; apenas as unidades de Santa Rita, São José do Rio Pardo e Bragança contavam com enfermeiras. O

plano de Itapetininga em princípio semelhante ao de Araraquara, apresenta uma falha, a nosso ver, capital: as unidades não integram todo o programa de saúde pública. Na região continuariam a atuar os Postos de Puericultura, Dispensário de Tuberculose e outros. Além disso, não foi prevista uma equipe mínima de pessoal especializado para atender as necessidades da população. Mesmo sem o conhecimento das condições da região, não será exagerada a afirmação de que, apenas um médico e fiscais sanitários, não podem desenvolver um programa de saúde pública.

Finalmente, o Conselho Estadual de Assistência ao Trabalhador Rural criado para tornar realidade as disposições constitucionais de assistência médica, já mencionadas, apresenta um programa sedutor, mas alterado substancialmente no seu objetivo primitivo. Ainda mais, e isto nos parece seu maior defeito, tenta criar uma noção de individualização de serviço, condenável sob todos os pontos de vista. Faz "tábula rasa" das unidades sanitárias existentes, consolidando a situação dos "Centros de Saúde" e "PAMS" e demais unidades especializadas como órgãos estáticos, mal instalados e desaparelhados de pessoal e material indispensáveis. Assim sendo, não acreditamos na viabilidade desse projeto que virá acrescentar mais um programa paralelo aos demais. Como confirmação dessa idéia, foi apresentada à Assembléia Legislativa, um projeto criando o Serviço Social Rural do Estado, destinado a promover a valorização do homem do campo, estabelecendo convênios com os municípios que desejarem executar o serviço de assistência social rural.

Se desejarmos fazer algo, impõem-se a remodelação dos programas de saúde pública do Estado com um órgão executivo único. Não que a unidade sanitária local se torne a única responsável pela assistência médico-sanitária, pois isto é simplesmente utópico, mas seja ela o órgão oficial do Estado na coordenação e supervisão de um programa integral de saúde pública. Fornecendo às Unidades do Interior do Estado os recursos em pessoal e material, elas poderão desenvolver tal como o S.E.S., um programa permanente de assistência médico-sanitária à população rural.

Não se diga que tal programa seria demasiadamente oneroso ao Estado, pois uma unidade com pessoal especializado, bem remunerado e com equipamento apropriado atenderia mais e melhor do que os inúmeros serviços existentes, na sua maioria desprovidos de tudo e, por isso, vivendo à margem das reais necessidades da população.

VI — RESUMO E CONCLUSÕES

Os autores iniciam o presente trabalho, conceituando a zona rural. Após evidenciar a impossibilidade da existência de uma definição rígida, adotam aquela que inclui as comunidades com um número de habitantes inferior a 2.000 e as localidades que, embora com populações maiores, apresentam problemas sanitários semelhantes aos da zona rural.

Em seguida, tecem algumas considerações sôbre as atividades de saúde pública para a zona rural, distinguindo principalmente: saneamento, assistência médica, assistência materna e infantil, contrôle de moléstias transmissíveis, mas considerando básico, antes de tudo, um programa integral para assistir às necessidades da população. Ressaltam ser indispensável o conhecimento da cultura da população que vai ser assistida, adotando, assim, métodos educativos adequados para melhor participação dessa população nos programas a serem desenvolvidos.

Passando em revista a organização dos Serviços destinados a execução dessas atividades distinguem duas modalidades: unidades móveis e unidades fixas. Descrevem êsses dois tipos de organização, citando vários exemplos da América Latina e do Brasil. Estudam a seguir a situação do Estado de São Paulo, analisando os planos e serviços destinados a prestar assistência à população rural:

1. Serviço Especial de Saúde de Araraquara.
2. Serviço Agro-médico-sanitário rural (Santa Rita).
3. Plano de Itapetininga.
4. Plano de Serviço Agro-médico-social.

Os autores tecem comentários sôbre êsses serviços, apontando os inconvenientes da utilização das unidades móveis e especializadas, e as vantagens do uso de unidades fixas devidamente equipadas em pessoal e material de modo a atingir tôda a população sob sua jurisdição.

Baseados em tais considerações, os autores apresentam as seguintes conclusões:

1. É recomendável, sob todos os pontos de vista que a execução do programa de saúde rural esteja a cargo de uma unidade polivalente regional devidamente aparelhada, agindo através de pequenas unidades, fixas nos locais de maior condensação populacional.
2. A unidade fixa na comunidade rural deverá estar a cargo de um ou mais elementos da equipe sanitária. O essencial é que sejam residentes no local onde se encarregarão da execução das atividades, sob a supervisão de técnicos da Unidade Sanitária da área.
3. O elemento fixo na localidade deve ser de preferência uma enfermeira de saúde pública que no desempenho de sua tarefa deverá manter íntimo contato com a população local. O inspetor sanitário constitui outro elemento de valor na execução do programa de saneamento. Ambos poderão ser ajudados por pessoal auxiliar devidamente treinado e preferentemente natural do lugar.
4. Os especialistas do Centro de Saúde atenderão periòdicamente a população nas sub-unidades rurais, mas em caso de necessidade a população rural poderá, sempre, recorrer aos serviços da unidade central.

5. Atentando para a particular situação do Estado de São Paulo, ao invés da criação de serviços especializados para atender à população rural, será mais recomendável o reequipamento da vasta rede de Centros de Saúde e PAMS já existentes, no sentido de possibilitar a estas unidades a execução de seu verdadeiro papel de órgão polivalente de saúde pública; simultaneamente deverá ser desenvolvido um programa de formação de profissionais sanitaristas e do indispensável pessoal auxiliar para o bom desenvolvimento da assistência médico-sanitária no meio rural.
6. O programa de saúde pública sendo um dos aspectos do bem-estar rural, deverá despertar nos sanitaristas, de todas as categorias e graus, o espírito de cooperação e de trabalho em equipe entre todos que labutam pela promoção do bem-estar da população rural.
7. O verdadeiro objetivo do programa de assistência sanitária é despertar a consciência da população rural a favor do seu próprio melhoramento, assim, sendo, deve a equipe sanitária ensiná-la a "auxiliar a si mesmo" para elevar o seu padrão de vida e conseqüentemente obter um melhor estado de saúde.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

The authors begin their paper with discussion of what constitutes a rural area. After pointing out the impossibility of a rigid definition, they accept the concept of rural communities as those of less than 2,000 inhabitants and those of greater population which present public health problems similar to rural areas.

They then touch upon certain aspects of public health activities for rural areas, principally sanitation, medical care, maternal and child care, the control of transmissible diseases, but they consider basic, above all, an integrated program that serves the needs of the population. The importance of knowledge of the cultural patterns of the community and the use of education to bring about the best possible participation of the people themselves in the programs that are to be developed, are emphasized.

In a review of the organization of the services directed toward carrying out the activities, the authors distinguish between two general types: mobile units and permanent public health departments. They describe the two types of organization, citing various examples from Latin America and Brazil.

In a study of the situation in the State of São Paulo, existing plans and services for providing assistance to the rural population are analyzed. The authors comment on these services, pointing out the disadvantages of mobile and specialized services, and the advantages of permanent units adequately equipped with personnel and equipment to serve the population under their jurisdiction.

Based on these considerations, the following conclusions are presented:

1. From all points of view, it is recommended that the rural public health program should be the responsibility of an adequately staffed regional polyvalent public health center, which may establish small permanent units located in those rural areas where there are concentrations of population.
2. A permanent unit (sub-center) in a rural community should have a staff of at least one and possibly more public health workers who preferably should be residents of the local area. They should be under the supervision of professional personnel of the public health department.
3. In the local area it is desirable to have a public health nurse who in the course of her activities keeps close contact with the local population. The sanitarian is also of great value in carrying out the sanitation program. Both may have the help of trained auxiliary personnel who should be local residents.
4. Specialists from the central health unit may periodically provide services to the local population; however, when necessary, the rural population may seek those services at the central unit.
5. As to the situation in the State of São Paulo, in place of creating specialized services for the rural population, it would be more highly recommendable to reorganize the vast system of Health Centers and "PAMS", already in existence, in order to make it possible for these units to carry out their true role of multi-purpose organs of public health; simultaneously there should be developed a program for the training of professional public health personnel and indispensable auxiliaries, in order to develop the best possible program of medical assistance and public health services in the rural areas.
6. In that a program of public health is one aspect of rural welfare, public health personnel of all categories and levels should develop a spirit of cooperation and team work not only among themselves but also with all others who are striving for the promotion of the well-being of the rural population.
7. An important objective of a public health program is to stimulate the local population to work toward their own improvement and thus the public health team should see as one of its functions "helping them to help themselves" to raise their own level of living and consequently achieve a better state of health.

BIBLIOGRAFIA

1. Adams, R. N.: Notas sobre el uso de la antropología en el campo de la Salud Pública. Bol. Ofic. Sanit. Panamer. 38:473-490, 1955.

2. Andrade, G. C. & Sutter, V. A.: Estruturação de um serviço rural na Amazônia, v. 1, p. 251-256 (in Congresso Brasileiro de Higiene, 7.º São Paulo, 1948: Anais... São Paulo, Tipogr. do Departamento de Investigações, 1949, 2 v.)
3. Aquino, V. M. de: Planejamento de uma unidade móvel da campanha sanitária contra a framboesia no Brasil, p. 198-201. (in Congresso Brasileiro de Higiene, 10.º Belo Horizonte, 1952: Anais... Belo Horizonte, Imprensa Oficial, 1953. 891 p.)
4. Barreto, J. de B.: Tratado de higiene, 3.ª ed. Rio de Janeiro, Livraria Atheneu, S. A., 1956, 2 v.
5. — Médecine curative en milieu rural. Bull. Org. Hyg., 7:1060-1092, 1938.
6. Barreto, Lidia & Gamboa, Adriana: Adiestramiento de parteras empiricas en el Paraguay. Bol. Ofic. Sanit. Panamer., 39:241-249, 1955.
7. Brasil. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística: Censo demográfico (1.º de julho de 1950) Estados unidos do Brasil: seleção dos principais dados. Rio de Janeiro, 1953, 85 p. (6.º Recenseamento geral do Brasil).
8. — Censo demográfico (1.º de julho de 1950) (Estado de São Paulo: seleção dos principais dados. Rio de Janeiro, 1953. 76 p. (6.º recenseamento geral do Brasil)..
9. — Estado de São Paulo: censo demográfico (1950) [Rio de Janeiro] 1954. 266 p. (6.º Recenseamento geral do Brasil).
10. Bustamante y Rivero, J. L.: La sanidad en el Peru. Bol. Ofic. Sanit Panamer., 26:745,759, 1947.
11. Candau, M. G. & Braga, E.: Novos rumos para a saúde pública rural, v. 1, p. 237-250 (in Congresso Brasileiro de Higiene. 7.º São Paulo, 1948: Anais... São Paulo, Tipogr. do Departamento de Investigações, 1949. 2 v.)
12. Cantídio, W. M. & Sales, N. A.: Serviço móvel de assistência médico sanitária, p. 32-34 (in Congresso Brasileiro de Higiene 10.º, Belo Horizonte, 1952: Anais... Belo Horizonte, Imprensa Oficial, 1953. 891 p.)
13. Cappeletti, R.: Unidades sanitarias del Uruguay. Bol. Ofic. Sanit. Panamer., 30:628-632, 1951.
14. Carneiro, A. & Netto, C. F.: Unidade médico-sanitária assistencial instalada em composição ferroviária; apresentado ao 11.º Congresso Brasileiro de Higiene, Curitiba. 1953. (mimeografado)
15. Castro, P. C.: Atividades de higiene escolar na unidade sanitária. Rev. paulista Hosp., 5 (5) 13-18, 1957.
16. Castro, P. C.: Os centros de saúde e unidades locais especializadas. Rev. Paulista Hosp., 3 (5) 11-15, 1955.
17. Congresso da Associação Médica Brasileira. 1.º, Ribeirão Preto, 1956: Assistência médica rural: relatório final. Rev. A. M. B., 2:537-540, 1957.
18. Congresso Brasileiro de Higiene. 9.º, Pôrto Alegre, 1951: Anais... Pôrto Alegre, Livraria do Globo, 1952. 755 p.
19. Congresso Brasileiro de Higiene. 10.º, Belo Horizonte, 1952. Anais... Belo Horizonte, Imprensa Oficial, 1953. 891 p.
20. Congresso Brasileiro de Higiene. 11.º, Curitiba, 1953: Relatórios e conclusões... Curitiba, 1953. 17 p.
21. Coutinho, J. de O.: Comunicação pessoal, 1956.

22. Derryberry, M.: Aspectos de educación sanitária de los programas de saneamento en areas rurales y pequeñas coletividades. Bol. Ofic. Sanit. Panamer., **36**:149-158, 1954.
23. Fonseca, R. C. [et alii]: Saneamiento rural, p. 169-190 (in Congresso Interamericano de Higiene. 1.º, La Habana, 1952: Memorial... La Habana, 1953. 880 p)
24. Freire, J. P. & Soares, R.: Serviço Especial de Saúde em Araraquara: sua organização e objetivo, p. 83-98 (in Congresso Brasileiro de Higiene. 9.º, Pôrto Alegre, 1951: Anais... Pôrto Alegre, Livraria de Globo, S. A., 1952. 755 p.)
25. —; Soares, R. & Silva, O. J.: Cooperação de saúde pública. Experiência do Serviço Especial de Saúde em Araraquara, p. 54-64 (ibid.)
26. Freire, P. M.: Organização de serviços de saúde para a zona rural. Arq. Hig. Saúde Públ., **9**:7-82, 1944.
27. Gonzáles, C. L.: Las unidades sanitárias de Venezuela. Bol. Ofic. Sanit. Panamer., **30**:608-616, 1951.
28. Hydrick, J. L.: La higiene rural en la Indias Holandesas. Lima, Ministério de la Salud Publica, 1944. 138 p.
29. Junqueira, A. M.: Assistência médica rural ou, O atual problema de São Paulo. São Paulo, Revista dos Tribunais, 1936. 90 p.
30. Lages, A. & Jatobá, A.: Plano de unidades de saúde em zona rural; apresentado ao 11.º Congresso Brasileiro de Higiene. Curitiba, 1953. (mimeografado)
31. Loyola, A. S.: Pontos básicos do programa de um serviço de higiene rural no âmbito estadual; apresentado ao 11.º Congresso Brasileiro de Higiene. Curitiba, 1953. (mimeografado)
32. Maragliano, L.: A assistência agro-médico-sanitária rural. Bol. mensal Inform. S. Paulo, **7** (75-76) 2-12, 1950.
33. Mascarenhas, R. S.: Contribuição para o estudo da administração dos serviços estaduais de tuberculose em São Paulo. São Paulo, 1953. 429 p. (Tese para Cátedra — Fac. Hig. Saúde Públ. Univ. S. Paulo).
34. — & Castro, P. C.: Atividades de centro e subcentros de saúde. Rev. paulista Hosp., **3** (3) 9-11, 1955.
35. Mazzei, R. P. & Marlo, A. G.: Organização de um serviço de saúde para atender às populações rurais do Rio Grande do Sul; apresentado ao 11.º Congresso Brasileiro de Higiene, Curitiba, 1953. (mimeografado)
36. Mustard, H. S.: Prática sanitária rural; trad. da Sociedade Brasileira de Higiene... Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, 1947. 498 p. (Biblioteca científica brasileira — Série B, v. 2)
37. Organização Mundial de Saúde: Los problemas de salud publica rural (Octava Asamblea Mundial de la Salud) Cron. Org. Mund. Salud, **9**:228-229, 1955.
38. — Comité d'Expertos en Educacion Higienica del Pueblo: primer informe. (Serie de Informes Técnicos, n. 89). tb. Bol. Ofic. Sanit. Panamer., **38**:500, 1955.
39. — Un projet d'hygiène de la maternité et de la enfance au Pakistan. Chron. Org. mond. Santé, **6**:156-158, 1952.
40. — Expert Committee, on Public Health Administration: Methodology of planning and integrated health program for rural areas: second report. Geneva, 1954. 50 p. (Technical report series, n. 83)

41. Penido, H. M.: O SESP é a riqueza do pobre. Visão, 19-7-1957.
42. —; Melloni, L. & Azevedo, N.: A administração sanitária do SESP na área do Rio Doce, v. 1, p. 601-607 (*in* Congresso Brasileiro de Higiene. 7.º, São Paulo, 1948. Anais... São Paulo, Tipogr. do Departamento de Investigações, 1949. 2 v.)
43. Pessoa, S. B.: Problemas brasileiros de higiene rural. São Paulo, s. e., 1949. 582 p.
44. Pierce, G. D.: Condiciones sanitarias de las zonas rurales y pequeñas colectividades en la región de las Américas. Bol. Ofic. Sanit. Panamer., **36**:145, 1954.
45. Ribas, B. L.: Unidades mistas para a zona rural, p. 43-53 (*in* Congresso Brasileiro de Higiene. 9.º, Pôrto Alegre, 1951. Anais... Pôrto Alegre, Livraria do Globo, S. A., 1952. 755 p.)
46. Ribeiro, S. S.: Unidades sanitárias móveis, p. 76-82 (*ibid.*)
47. Romeu, L. B.; Cavalcanti, A. V. & Barcelos, E. T.: Plano de saúde aplicável às pequenas comunidades; apresentado ao 11.º Congresso Brasileiro de Higiene, Curitiba, 1953. (mimeografado)
48. Santo, J. P. & Souza, W.: Sugestões para um programa mínimo de trabalho em saúde pública no Brasil, p. 109-120. (*in* Congresso Brasileiro de Higiene. 9.º Pôrto Alegre, 1951: Anais... Pôrto Alegre, Livraria do Globo, 1952. 755 p.)
49. Seminário Latino-Americano de Bem-Estar Rural. Rio de Janeiro, 1953: Anais... Rio de Janeiro, Universidade Rural, 1954. 2 v.
50. Silveira, J. P. (et alii): Organização e funcionamento do Serviço Itinerante de Goiás, p. 273-283 (*in* Congresso Brasileiro de Higiene. 10.º, Belo Horizonte, 1952: Anais... Belo Horizonte, Imprensa Oficial, 1953. 891 p.)
51. Smillie, W. G.: Administração sanitária nos Estados Unidos. Rio de Janeiro, Sociedade Brasileira de Higiene, 1949. 661 p.
52. Société des Nations: Aperçu général sur la politique médico-sociale a la campagne. Bull. Org. Hyg., **7** (6) 971, 1938.
53. Tameirão, H. P.: Inquérito sôbre o saneamento das cidades do Estado de São Paulo. Arq. Hig. Saúde públ., **18**: 121-140 1953.
54. Tetzlaff, F.: Insect vector control activities of the U. S. Public Health Service. Assoc. Interamer. Ing. Sanit., **2** (4) 438, 1949.
55. Vieira, F. B.: Questões de saúde e de assistência na cidade e no campo. Bol. Inst. Hig. (S. Paulo) n. 87, 1945. 36 p.
56. Winslow, C.-E. A.: The cost of sickness and the price of health. Geneva, World Health Organization, 1951. (W. H. O.: Monograph Series, n. 7)

ALGUMAS OBSERVAÇÕES SÔBRE UMA ZONOSE, DENOMINADA NÓDULO DOS ORDENHADORES, NO HOMEM E PSEUDO-VARIÓLA BOVINA, NO GADO ^o

RUY SOARES *

GUENTHER RIEDEL **

AYRTON PINHEIRO DE SOUZA ***

JOSÉ PÉRICLES FREIRE ****

Em agosto de 1956, correu a notícia da existência de uma epizootia de variola bovina, na região da Araraquarense, no Estado de São Paulo. Havendo no município de Araraquara uma unidade sanitária, encarregada de todos os problemas de saúde pública, denominada "Serviço Especial de Saúde", surgiu o interesse de apurar a possível relação entre esta doença animal e o homem.

Por esta razão, o veterinário de saúde pública do referido Serviço se pôs em contato com o veterinário do Departamento de Defesa Sanitária Animal (D.D.S.A.), da Secretaria da Agricultura, para se informar a respeito da extensão e das características dos surtos constatados. Assim, até 7 de agosto de 1956, foram constatados, clinicamente, como variola bovina ou "cow-pox" os seguintes casos:

- 1) 19-3-1956: fazenda São Vicente — Guarapiranga 250 casos
- 2) 20-6-1956: fazenda Sta. Emília — Ribeirão Preto ... 100 casos
- 3) 19-7-1956: fazenda São José — Ribeirão Preto 2 casos
- 4) 6-8-1956: fazenda Boa Vista — Boa Esperança 50 casos

Recebido para publicação em 15-4-1957.

^o Trabalho realizado no Serviço Especial de Saúde Pública (SES) de Araraquara. Centro Rural de Aprendizado da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Apresentado à Sociedade Brasileira de Dermatologia e Sifilografia, na sessão do dia 27 de março de 1957.

* Assistente do Diretor e chefe da Sub-Secção de Doenças Transmissíveis Agudas e Doenças Venéreas do SES.

** Chefe da Secção de Saúde Pública Veterinária do SES.

*** Veterinário do Departamento da Produção Animal da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo.

**** Diretor do SES.

Os casos mais próximos do surto observado em Araraquara e descritos a seguir são os da fazenda Boa Vista, município de Boa Esperança, situado a mais de 40 Km. e sem comunicação direta com os casos observados no município de Araraquara.

No caso da fazenda Santa Emília, o veterinário do D.D.S.A. teria observado nódulos nas mãos dos dois ordenhadores. Este fato chamou a nossa atenção para uma possível relação entre a doença do animal e do homem.

Na segunda quinzena de agosto de 1956, irrompeu um surto desta epizootia, na fazenda São Luiz Gonzaga, situada no distrito de Santa Lúcia, município de Araraquara, área sob a jurisdição do Serviço Especial de Saúde, que decidiu investigá-la mais detalhadamente, encarregando-se desta missão o médico epidemiologista e o veterinário de saúde pública, que para lá se dirigiram no dia 18-8-1956, para fazer suas observações e a coleta dos dados necessários.

HISTÓRICO E OBSERVAÇÃO DOS ANIMAIS DOENTES

Constatamos a existência de 320 bovinos, dos quais 90 em lactação, com idade variável de 3 a 8 anos. A última introdução de animais na fazenda data de agosto de 1954.

Nenhum dos referidos animais foi vacinado contra a varíola bovina (cow-pox), mas todos o foram contra a brucellose e a aftosa.

Outras espécies animais não foram afetadas pela doença.

O primeiro caso surgiu em fevereiro de 1956, relatado nas linhas seguintes:

1.ª observação: fevereiro de 1956.

Vaca "Barra Mansa", meio sangue holandês-zebú, desde 1954 na fazenda, em sua 3.ª lactação normal.

Apareceram, inicialmente, duas lesões em uma teta, com forma de nódulo arredondado, de 1 cm. de diâmetro. Seguiu-se uma fase pustulosa, com purulência moderada. Esta forma evoluiu para a crosta, de forma irregular, alcançando alguns centímetros de diâmetro, chegando a envolver grande parte da teta lesada, de cor escura, de consistência coriácea e fortemente aderida ao tecido subjacente. A pele, adjacente à crosta, apresentava-se com pápulas e fissuras entrecruzadas, superficiais, com o comprimento máximo de 1 cm., resultantes de inflamação crônica.

As lesões foram tratadas, nesta fase, com a solução de nitrato de prata, desprendendo-se a crosta, depois de uma semana, com certa dificuldade, expondo um tecido néo-formado, semelhante ao que se observa na reação vacinal à varíola, no homem (liso e brilhante). Depois de 15 dias dos primeiros siste-

mas, o caso estava curado, deixando uma cicatriz irregular, de alguns centímetros de diâmetro (Fotografia n.º 1), causada pelo nitrato de prata.

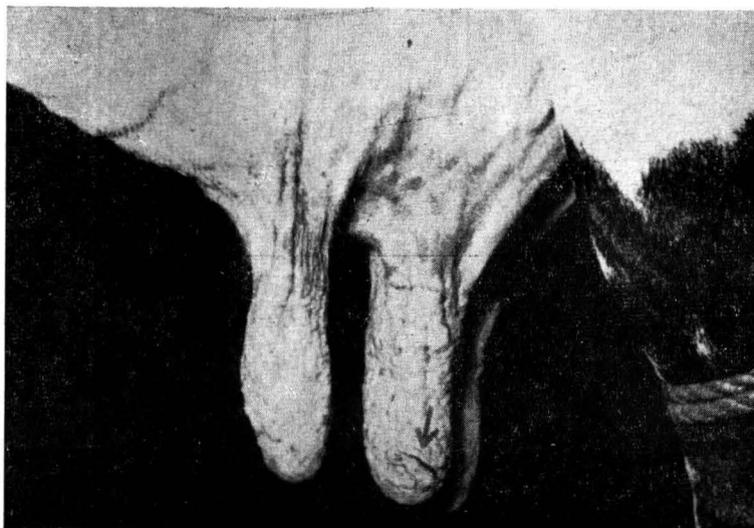


Fig. 1

2.^a observação: março de 1956.

Vaca "Bolívia", raça switz-zebú. Sintomas e evolução idênticos ao primeiro caso, até a fase de crosta que, neste caso, era pequena e única.

Este animal foi tratado com pomada a base de sulfanilamida, evoluindo para a cura, sem deixar cicatriz.

Observações dos casos seguintes:

Entre maio e junho de 1956, apareceram, simultaneamente, diversos casos no rebanho em lactação, com as seguintes características:

1) Pápulas múltiplas nas tétas, com 3 a 4 mm. de diâmetro, moderadamente dolorosa, pois o animal reagia à ordenha, seguindo-se uma fase pustulosa, muito discreta e, finalmente, transformando-se em crostas duras, escuras, salientes e fortemente aderidas ao tecido subjacente.

As crostas, que eram múltiplas, atingiam o tamanho não superior a 1 cm. de diâmetro, portanto, menores do que as observadas nos dois primeiros casos já descritos. Outras diferenças, nos sintomas e na evolução, não foram notadas.

Com a multiplicação dos casos no rebanho, começou a aparecer a localização também no úbere, enquanto nos casos iniciais se limitava às tétas. Foi também observado que o mesmo animal apresentava, simultaneamente, lesões em diversos estágios de evolução.

Os casos se sucederam, entre 30 animais em lactação, com evolução média de 10 a 15 dias, tendo sido aplicada, nesta fase do surto, pomada à base de sulfanilamida (a 10%) e óleo de cação (100 c.c.), em excipiente de vaselina sólida, que determinou o restabelecimento rápido de todos os animais.

Última observação: 20 de novembro de 1956.

Vaca "Primavera", raça meio sangue holandês-zebú, nascida na fazenda, com 4 anos de idade, apresentando fissuras na região das tétas, semelhantes às observadas no primeiro caso descrito e pápulas na região circundante à inserção das tétas. (Fotografia n.º 2).

O animal apresentava ligeiro aumento da sensibilidade à ordenha. Não foi possível determinar se é um caso reincidente ou crônico.



Fig. 2

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL VETERINÁRIO

As seguintes considerações, de ordem clínica, devem ser levadas em conta, na formulação do diagnóstico da zoonose que estamos descrevendo.

1) Todos os animais são, regularmente, vacinados contra a aftosa e contra a brucellose, o que contribue para excluir estas doenças, não levando em conta as diferenças clínicas destas infecções.

2) Ocorrem, no rebanho, periodicamente, epizootias de mamite que são controladas e não mostram relação com o surto, objeto dêste estudo. Aventamos a hipótese do surto descrito haver tornado os bovinos mais receptíveis à mamite, como infecção secundária. Em consequência das medidas preventivas tomadas, não ocorreram casos de mamite, até o fim do estudo.

3) No rebanho leiteiro, é comum haver casos de ressecamento da pele das têtas, com formação de fissuras. Estas lesões são mais comuns na estação fria e favorecidas pela ação da poeira, abundante nesta época de seca.

4) As crias dos animais, embora tenham tido contacto direto com as mamas, não apresentaram anormalidade.

Resta-nos fazer o diagnóstico diferencial entre a varíola bovina ou “cow-pox” e a pseudovaríola bovina, para o que nos valem da seguinte tabela:

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL ENTRE:

<i>Varíola bovina</i>	<i>Pseudo-varíola bovina</i>
1) Pápulas numerosas, disseminadas pelo úbere e têtas.	1) Pápulas e nódulos isolados nas têtas e região adjacente.
2) Sensibilidade exagerada à ordenha.	2) Sensibilidade moderada à ordenha.
3) Vesículas e pústulas bem definidas.	3) Fase vesicular e pustulosa mal definida.
4) Crostas disseminadas.	4) Crostas localizadas, preferentemente, nas têtas.
5) Cicatrizes freqüentes.	5) Cicatrizes pouco freqüentes.
6) Mamite secundária freqüente.	6) Mamite secundária ausente.
7) Perda da função mamária freqüente.	7) Perda da função mamária rara.
8) A infecção confere imunidade duradoura.	8) Imunidade não confirmada.

A vacinação contra varíola bovina ou “cow-pox” poderia, possivelmente, contribuir para confirmar a conclusão de se tratar de uma infecção distinta da varíola bovina verdadeira.

No entanto, devido à dificuldade na obtenção de vacinas contra o “cow-pox”, esta não foi realizada.

A inoculação de material suspeito em animais sensíveis não foi executada.

Os exames histológicos não foram realizados, devido à rapidez do restabelecimento dos animais, após os cuidados profiláticos iniciais. O animal que, presentemente, apresenta lesões (Vaca Primavera) faz parte de um lote de 15 animais, inscritos em um concurso leiteiro, patrocinado pelo Departamento de Produção Animal. Por êste motivo, não foi possível, também, colher material para exames histológicos, ainda mais que o referido lote está classificado em 1.º lugar, até o momento da 2.ª prova. A última prova será realizada em fevereiro de 1957.

A coincidência da epizootia com a realização do concurso leiteiro, entre os criadores da região, com o fito de introduzir melhoramentos zootécnicos nos rebanhos, obrigou-nos, em primeiro lugar, a combater a doença, o que foi conseguido satisfatoriamente.

O desaparecimento rápido da doença prejudicou algumas fases do estudo, especialmente a coleta de material mas, também, forneceu-nos dados preciosos sobre o método de tratamento e sobre o diagnóstico diferencial com a varíola bovina, pois no caso desta última seria impossível manter um alto nível de produção dos animais.

Chegamos à conclusão, pelo estudo dos sintomas e de sua evolução, que a epizootia, objeto deste trabalho, pode ser considerada, sob o ponto de vista clínico, como a pseudovaríola bovina ou pseudo "cow-pox" ou paravacína, descrita pelos autores europeus e norte-americanos.

OBSERVAÇÕES CLÍNICAS DOS CASOS HUMANOS

Passemos em seguida a relatar as observações referentes aos casos humanos.

De início, examinamos 4 ordenhadores, dos quais um contava uma história de nódulos aparecidos em suas mãos no mês de abril, mas desaparecidas, por cura, no momento da observação e, por esta razão, o eliminamos de nossas observações.

Os 3 restantes apresentavam nódulos em suas mãos, em plena evolução, cujas observações passamos a relatar.

Observação n.º 1 — Data: 18-8-1956.

R. L. M., 23 anos, masculino, branco, solteiro, retireiro, pernambucano, residente há 7 anos no Estado de São Paulo e há 6 meses na fazenda São Luiz Gonzaga. Vacinado e revacinado contra a varíola, com pega típica em ambas as vezes, sendo a última feita em 1948. Sua história e seu exame médico nada revelaram de anormal, excepto os nódulos das mãos, única doença encontrada. Temperatura: 36,3.

História da doença atual: Como retireiro, tem a obrigação de ordenhar as vacas, duas vezes por dia. Em fins de junho, notou um grande número de vacas com "feridas" nas tetas, alcançando o maior número em agosto, época em que o paciente adoeceu com nódulos em suas mãos.

Descrição das lesões:

1) Nódulo de forma hemisférica, de consistência dura e firme, vermelho escuro, com 1 cm. de diâmetro, apresentando-se umbilicado em sua porção superior e situado na região da articulação da falange com a falanginha, na parte dorsal do dedo mínimo da mão direita. (Fotografia n.º 3)

Crosta situada na região da articulação da falange com a falanginha, na parte dorsal do dedo médio da mão direita. Na face lateral da falange do mesmo dedo, à direita, nota-se uma pequena erosão. (Fotografia n.º 3)

2) Lesão crostosa, vermelho escura, de forma circular, situada sobre um nódulo em fase de achatamento ou de absorção, localizada na região da arti-



Fig. 3

culação da falange com a falanginha, na parte dorsal do dedo indicador da mão esquerda. (Fotografia n.º 4)



Fig. 4

3) Gânglios epitrocleanos, direito e esquerdo, aumentados e indolores.

Exames de laboratório:

Sangue — Reação de Kahn: resultado negativo.

Seguimento do caso: O paciente foi reexaminado no dia 6-11-1956 e, nesta data, constatamos o desaparecimento completo dos nódulos, sem deixar cicatriz, havendo uma perfeita "restitutio ad integrum". A cura se efetuou em meados de setembro, durando todo o curso da doença, segundo a informação do paciente, 5 semanas. Alta, curado, nesta data.

Observação n.º 2 — Data: 18-8-1956.

L. M., 23 anos, masculino, branco, casado, retireiro, pernambucano, residente no Estado de São Paulo há 7 anos e na fazenda São Luiz Gonzaga há 6 meses. Vacinado e revacinado contra a varíola, com pegadas típicas em ambas as vezes. Sua história e seu exame médico nada revelaram de anormal a não ser a presença de nódulos em sua mão esquerda. Temperatura 36,4.

História da doença atual: Refere que, desde maio, vem notando "feridas" nas tetas de muitas vacas, ordenhadas pelo paciente duas vezes por dia sem usar nenhum protetor. Em junho, notou o aparecimento de nódulos em sua mão esquerda, que passamos a descrever:

1) Nódulo de forma hemisférica, de consistência dura e firme, vermelho azulado, com 1 cm. de diâmetro, situado na região da articulação da falange com a falanginha, na parte dorsal do dedo indicador da mão esquerda. (Fotografia n.º 5).



Fig. 5

2) Nódulo, semelhante ao primeiro, com 2 cm. de diâmetro, situado na região de articulação da falange com a falanginha, na parte dorsal do dedo médio da mão esquerda. No mesmo local, nota-se outro nódulo, com 1/2 cm. de diâmetro, apresentando-se, ambos, achatados e umbilicados em sua porção superior e central; observa-se, à direita e um pouco para baixo, uma pequena rosta. (Fotografia n.º 5)

3) Gânglios epitrocleanos, direito e esquerdo, aumentados e indolores.

Exames de laboratório:

Sangue — Reação de Kahn: resultado negativo.

Seguimento do caso: Foi impossível fazê-lo, porque o paciente e sua família mudaram-se para o Estado de Pernambuco, em setembro de 1956.

Observação n.º 3 — Data: 18-8-1956.

J. L., 28 anos, masculino, pardo, solteiro, retireiro, pernambucano, residindo há 21 anos no Estado de São Paulo e há 3 meses na fazenda São Luiz Gonzaga. Vacinado e revacinado contra a varíola, com pega típica na 1.ª vez.

Sua história e seu exame médico nada revelaram de anormal, excepto um nódulo em sua mão direita. Temperatura 36,5.

História da doença atual: Informa que tem a obrigação de ordenhar as vacas duas vezes por dia, diariamente, e que, desde sua chegada, em maio, observou muitas vacas com “feridas” em suas tétas. Em meados de julho, notou um nódulo em sua mão direita.

Descrição das lesões:

1) Nódulo em via de achatamento, com uma pequena depressão em sua porção central e uma descamação da epiderme, um pouco abaixo, de consistência firme, vermelho escuro, com 0,6 cm. de diâmetro e situado na região da articulação da falanginha com a falangeta, na parte dorsal do dedo indicador da mão direita. (Fotografia n.º 6)

2) Crosta situada na região da articulação da falange com a falanginha, na parte dorsal do dedo anular da mão direita. (Fotografia n.º 6)

3) Gânglios epitrocleanos, direito e esquerdo, aumentados e indolores.

Exames de laboratório:

Sangue — Reação de Kahn: resultado negativo.

Seguimento do caso: Reexaminado, em 6-11-1956, constatamos o desaparecimento total do nódulo, sem deixar cicatriz. A cura se efetuou em fins de

agosto, segundo a informação do paciente, durante todo o curso da doença, aproximadamente, 6 semanas. Alta, curado, nessa data.



Fig. 6

SINTOMATOLOGIA

Segundo Hagan², os nódulos dos ordenhadores começam como pápulas, circundadas por áreas eritematosas, cinco a sete dias, depois da exposição. Elas crescem gradualmente e se transformam em nódulos de consistência firme, elástica, vermelho azulado, de um a dois cm. de diâmetro. São, habitualmente, quase indolores mas, freqüentemente, produzem uma sensação pruriginosa. Depois de atingirem pleno desenvolvimento, tornam-se hemisféricas, com uma leve depressão central em seus polos. Tendem a se achatar, como um processo de cura. Se o epitélio se rompe, observa-se um tecido de granulação altamente vascularizado, de coloração cinza escura, como substância das lesões. Às vezes, determinam infartamento dos gânglios axilares. A cura se processa dentro do prazo médio de seis semanas, sem deixar cicatriz. Estas lesões se localizam nas mãos dos ordenhadores, principalmente nos dedos e são, em geral, pouco numerosas. Groth³, na Alemanha, viu um caso que apresentava quarenta nódulos em uma das mãos e vinte na outra. Bonnevie³, na Dinamarca, e Brantes³, na Letônia, referem casos de eflorescências secundárias em outras partes do corpo. Julga-se que estas eflorescências são de origem tóxica ou alérgica.

Em nossas observações, conforme é relatado e é mostrado nas fotografias n.ºs. 3, 4 e 5, encontramos uma grande concordância com a descrição feita por Hagan², com referências aos nódulos. Não constatamos infartamento dos gânglios auxiliares, sendo que os epitrocleanos eram palpáveis e indolores. Também não observamos eflorescências secundárias em outras partes do corpo.

ANATOMIA PATOLÓGICA

Andrews¹ afirma que as lesões dos nódulos dos ordenhadores se assemelham ao granuloma piogênico. As lesões microscópicas do granuloma piogênico, segundo o mesmo autor, mostram inúmeros vasos sanguíneos néo-formados e tecido conjuntivo jovem, com maior ou menor infiltração linfocítica e células plasmáticas.

Katzenellenbogen⁴, estudando as lesões histológicas, tanto do homem quanto do gado, chega à conclusão de que há duas formas, assim descritas: uma, específica, caracterizada por uma inflamação crônica, acompanhada de infiltração celular e degeneração intra-celular vacuolar, às vezes corpos de inclusão de Feulgen positivos, no *stratum spinosum* da epiderme; uma outra forma, dita inespecífica, caracterizada por leve degeneração das células do *stratum spinosum*, sem nenhum corpúsculo de inclusão.

Infelizmente, lamentamos, devido às dificuldades locais, não termos podido fazer o exame histológico das lesões, tanto do gado quanto dos homens por nós observados.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

O nódulo é o sinal em que se assenta o diagnóstico desta dermatose. Outra característica observada é a presença de uma vesícula no polo superior do nódulo, louvando-nos nas informações obtidas de nossos três pacientes, em sua fase precoce, que depois se rompe, dando saída a uma secreção sero-purulenta, ficando em seu lugar uma pequena depressão central, côncava, que pode ser apreciada muito bem, nas fotografias n.ºs. 3, 5 e 6, dando ao nódulo um aspecto umbilicado.

Um destes nódulos foi puncionado por nós, não se obtendo nenhum material, o que prova a sua consistência sólida.

Outro fato, que constatamos em nossas observações, é a localização preferencial na face dorsal das articulações dos dedos da mão, não se observando nódulos em outras partes do corpo.

Elemento de valor, para diagnóstico, é o seu caráter profissional, pois só atacou os ordenhadores que tiveram contacto com lesões quase semelhantes às situadas nas tétas das vacas.

Estas são, de um modo geral, as lesões e as circunstâncias que observamos em nossos casos, levando-nos a distingui-los das demais dermatoses nodulares, como, o ectima contagioso, o granuloma piogênico, os granulomas por inclusão de um corpo estranho, o eritema polimorfo e a sífilis.

O ectima contagioso ou varíola dos carneiros, segundo Andrews¹, tem uma grande semelhança com as lesões da vacinação anti-variolica, em suas fases vesico-pustulosa, pustulosa e crostosa. O contágio com corneiro infectado e a sua natureza pustulosa a distinguem do nódulo, lesão de consistência sólida.

Os granulomas piogênicos, pequenas vegetações neoplásticas, de exuberante tecido granulomatoso, pedunculado, framboeziforme, são secundários à infecção por cocos piogênicos. Pierini⁵ lembra a diferenciação com os granulomas produzidos por inclusão de corpos estranhos, por inclusão de um fragmento de pêlo.

O eritema polimorfo tende a atacar a face, o tórax, a região dorsal das mãos, a mucosa oral, o que não sucede com os nódulos dos ordenhadores. O eritema nodoso ataca, predominantemente, as pernas, é doloroso, fato que o diferencia dos nódulos dos ordenhadores, que são indolores e localizados nas mãos.

Distingue-se do cancro sifilítico por história de ausência de contacto venéreo e pela presença de contacto com a zoonose do gado.

A anamnese, o exame clínico e os exames de laboratório nos trarão um subsídio valioso para a nossa orientação diagnóstica.

Infelizmente, não conseguimos obter uma amostra de tecido para a biópsia.

Assim, por eliminação, chegamos à conclusão clínica de que a dermatose, observada por nós nos três ordenhadores mencionados neste trabalho, relacionada com as lesões de pseudovariola bovina no gado leiteiro, é a doença denominada nódulo dos ordenhadores.

PROGNÓSTICO

O prognóstico dos nódulos dos ordenhadores é benigno.

Surgem, uns poucos dias depois do contacto infectante e evoluem para a cura espontânea, dentro de quatro a seis semanas, sem deixarem cicatriz.

TRATAMENTO

Sendo obscura a etiologia da doença, desconhece-se o tratamento específico. Os casos observados por nós curaram-se espontaneamente.

Considerando os bons resultados obtidos com o tratamento tópico sulfaminado, nas vacas, poderíamos sugerir o tratamento dos casos humanos com sulfas por via interna, visando a cura e a prevenção de infecções piogênicas secundárias.

ETIOLOGIA

Há uma relação íntima, evidente, entre os nódulos dos ordenhadores no homem e a pseudovariola bovina no gado, fato que pressupõe um agente etiológico comum.

Os autores alemães Schultz, Seifried e Schaaf³, de acordo com suas experiências, acham que os nódulos dos ordenhadores são produzidos por um vírus

idêntico ou, pelo menos intimamente aparentado ao da varíola bovina. Esta afirmação foi refutada por outros autores que duvidaram da autenticidade do material empregado nas inoculações.

Dolgov e Morosow, citados por Bonnevie³ usando material humano para inoculação, reproduziram a doença no gado e no carneiro, mas foram incapazes de reproduzi-la no coelho, animal sensibilíssimo ao vírus da varíola humana, ao do "cow pox" e ao vírus da vacina, provando sua natureza diferente das destes últimos vírus.

Stark³ e seus colaboradores, firmados em experiências sôbre o agente infeccioso das lesões vesiculosas, atípicas no animal e de nódulos no homem, concluíram que êste é um vírus da varíola, modificado em suas propriedades biológicas, por parasitismo contínuo em hospedeiros diferentes.

Christen³, na Suíça, por meio de trabalho experimental, afirma que o úbere vesiculoso, doença prevalente naquele país, não é a varíola bovina porque a referida doença não confere imunidade ao vírus da vacina e nem êste a previne. Estas experiências foram repetidas e confirmadas por Bennevie³.

Os autores norte-americanos Hester, Boley, Graham, Gibbons³, em suas experiências, confirmaram as conclusões de Christen, na Suíça.

Hardenbrook³ confirmou os estudos anteriores, verificando que a doença bovina não era prevenida pela vacinação anti-variolica. Êle isolou uma espécie de cogumelo, pertencente ao gênero *Actinomyces*, nas lesões iniciais dos animais doentes, com o qual conseguiu produzir lesões, vesiculosas nos úberes das vacas. Estas pesquisas carecem de verificação futura.

Hagan² julga idêntico o agente etiológico produtor das doenças humana e animal, mas acha que a sua causa é obscura e desconhecida.

Os casos humanos, por nós observados, apresentavam todos pegadas típicas de primo-vacinação anti-variolica, na idade escolar e revacinação em 1949, confirmando, assim, as conclusões dos autores europeus e americanos, que o vírus da vacina não confere imunidade à doença que produz os nódulos dos ordenhadores no homem.

Tôdas as tentativas de cultivar o vírus, em material proveniente de lesões humanas ou de lesões do gado, na membrana corio-alantóide de embrião de galinha, falharam.

Além disto, Katzenellenbogen⁴ encontrou nas preparações histológicas providas das vacas doentes e dos casos humanos de nódulos dos ordenhadores, os corpúsculos ou inclusões de Feulgen no *stratum spinosum* da epiderme. Ora, estas formações sugerem as alterações celulares causadas por vírus.

A maioria dos autores admite a etiologia por vírus, embora êste não tenha sido isolado em ôvo embrionado, (alegando em seu abono que fato idêntico ocorre com os vírus da varicela e da verruga).

Wheeler e Cauley⁷, em recente trabalho datado de setembro de 1956, são da mesma opinião.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

A mesma doença, nas suas formas, nódulos dos ordenhadores no homem e pseudovariola bovina no gado, foi observada na Europa, nos seguintes países: Alemanha, Suíça, Dinamarca, Finlândia, Letônia e Rússia.³

Na Ásia, foi observada em Israel, por Katzenellenbogen⁴ que dela relatou 30 casos, publicados em 1952.

Na América do Norte foi descrita, nos Estados Unidos, pela primeira vez, por Becker², em 1940.

Na América do Sul foi observada, pela primeira vez, em 1937, no Uruguai, pelo professor May, citado por Pierini⁵.

Na Argentina foi descrita, também pela primeira vez, pelo professor Pierini⁵ e colaboradores, em 1952.

Apesar de nossos esforços, consultando fontes de grande idoneidade, no Rio e em São Paulo, não conseguimos nenhuma indicação bibliográfica sobre a ocorrência dos nódulos dos ordenhadores e da pseudovariola bovina, em nosso país.

EPIDEMIOLOGIA

Os nódulos dos ordenhadores constituem doença estritamente profissional que tem, como fonte de infecção para o homem, a ordenha de vacas apresentando lesões de pseudo variola bovina em suas têtas.

Vimos, em outra parte deste trabalho, que a última aquisição de gado, pela fazenda, data de 1954.

Os ordenhadores, objeto deste estudo, foram admitidos dois no mês de março e um no mês de maio de 1956, datas posteriores ao início da epizootia, e estes afirmaram que estavam sadios, ao ingressarem na fazenda.

O quarto ordenhador que apresentava uma história de nódulos, em abril de 1956 e já completamente curado, no momento deste estudo, foi admitido em novembro de 1955, data anterior ao surto epizootico e nos informou que chegara à fazenda sadio, lá adoecendo em abril de 1956, ficando pois esclarecido que os ordenhadores, mencionados no presente trabalho, tiveram, como fonte de infecção, o gado leiteiro da fazenda.

Os pequenos ferimentos ou soluções de continuidade, de ordem traumática, tão freqüentes nas mãos dos trabalhadores agro-pecuários, em contacto com as lesões das têtas das vacas, constituem a porta de entrada da infecção.

Os nódulos dos ordenhadores, em condições naturais, não se transmitem diretamente de homem a homem e de acordo com as nossas observações, limitaram-se, exclusivamente, aos ordenhadores.

Entretanto, o autor finlandês Sonck⁶ conseguiu infectar-se por inoculação voluntária de material colhido de nódulo de um ordenhador, reproduzindo-o, com grande sucesso, em sua própria pele. Com o material colhido deste nódulo, produzido experimentalmente em si mesmo, Sonck⁶ inoculou seu colaborador Penttinen, não logrando êxito, pois apenas diminutas lesões resultaram desta nova experiência.

Nossa observação se baseia em condições naturais, que determinaram o aparecimento dos nódulos exclusivamente entre os ordenhadores. Verificamos, também, que os membros das famílias dos ordenhadores doentes e os outros trabalhadores locais, empregados em outros mistéres, não apresentaram nenhum sintoma de infecção, em nenhuma ocasião.

O fato de atacar as mãos mostra a sua característica de doença profissional, podendo ser considerada um verdadeiro acidente de trabalho.

Contudo, em outro passo, afirmamos que ela não incapacita para as ocupações habituais, conforme as nossas verificações entre os três ordenhadores afetados, que não perderam um único dia de serviço, fato decorrente da benignidade da doença. A inconveniência de manter os ordenhadores doentes em serviço ativo consiste no perigo de propagarem a doença aos animais sadios, como ocorreu na fazenda São Luiz Gonzaga, que teve 30% de seu gado leiteiro atacado, causando êste fato prejuízos e aborrecimentos, tanto ao patrão como aos empregados.

Outro fato, digno de nota, relacionado com os animais doentes, é a limitação da zoonose somente ao gado leiteiro. Os bezerros de vacas sadias ou doentes, os machos, as novilhas, não adoeceram. O mesmo fato foi constatado por autores estrangeiros.

Baseados em nossas observações, verificamos que a fonte de infecção humana é o animal doente; que a infecção se transmite de animal a animal, indiretamente pela ordenha, veiculada pelas mãos dos ordenhadores. Os autores estrangeiros referem a transmissão por meio de instrumento mecânico de ordenha³.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Se não houvesse concursos leiteiros, patrocinados pelo Departamento de Produção Animal, supervisionados por veterinários, continuaríamos a ignorar a existência da pseudo-varíola bovina, grosseiramente confundida com a varíola bovina ou "cow pox" e a sua forma humana, a rara doença denominada nódulo dos ordenhadores. Também, a benignidade da doença, tanto no homem como no animal, concorre para que passe despercebida. Bem razão tem Ktzenlembogen⁴ ao referir que "os aspectos clínicos dos nódulos dos ordenhadores são muito modestos, em proporção com o grande interêsse biológico que desperta entre os pesquisadores, nos diferentes ramos da pesquisa médica", conceito que esposamos inteiramente e que nos animou a publicar as nossas modestas observações.

Ainda nesta ordem de idéias, queremos salientar, neste passo, a valiosa cooperação entre as profissões médicas e a veterinária, a qual tornou possível a execução dêste trabalho. Por esta razão, louvamos as iniciativas pioneiras do Serviço Especial de Saúde, em incluir em seu programa uma secção de Saúde Pública Veterinária, graças ao qual êste estudo pôde ser realizado.

Um dos objetivos dêste estudo é mostrar a possibilidade de passarem despercebidas muitas zoonoses, por falta de assistência médica veterinária adequada aos rebanhos e chamar a atenção dos médicos e dos veterinários para esta entidade mórbida, ocorrida no Estado de São Paulo e estimular novos estudos e pesquisas, por parte de outros investigadores, mais hábeis do que nós.

C O N C L U S Õ E S

1) No momento atual, grassam nos rebanhos leiteiros de nosso país duas epizootias distintas e, comumente, confundidas: a varíola bovina e a pseudovaríola bovina.

2) A doença, denominada pseudovaríola bovina no animal e nódulo dos ordenhadores no homem, é uma única entidade mórbida, causada, presumivelmente, por um mesmo vírus.

3) A pseudovaríola bovina se limita, exclusivamente, às vacas em lactação e não se propaga, em condições naturais, diretamente de animal a animal.

4) A propagação da referida doença ao gado leiteiro é veiculada, comumente, por meio das mãos dos ordenhadores ou instrumentos mecânicos de ordenha.

5) A doença, em sua forma humana, denominada nódulo dos ordenhadores, não é transmissível, diretamente, em condições naturais, de homem a homem, infectando-se êste no animal doente.

6) Em sua forma humana, é uma doença profissional, porquê só ataca trabalhadores que lidam com animais doentes, principalmente os ordenhadores.

7) É uma doença de caráter benigno, tanto no homem como no animal.

8) As medidas profiláticas mais eficientes consistem no tratamento tópico, à base de sulfas, do gado leiteiro doente; no afastamento temporário dos ordenhadores doentes, da mungidura do gado leiteiro sadio, podendo, entretanto, serem aproveitados na ordenha do gado leiteiro doente que, desta forma, ficará isolado do gado sadio.

R E S U M O

Os autores descrevem uma zoonose observada no Estado de São Paulo, denominada pseudovaríola bovina ou para vacina e estreitamente relacionada, etiológicamente, com uma afecção das mãos dos ordenhadores, denominada nódulo dos ordenhadores, da qual apresentam três casos típicos, do ponto de vista clínico.

Admite-se que esta zoonose seja causada por um vírus.

Fazem um estudo da zoonose, revisando a literatura sobre o assunto, estabelecem o diagnóstico diferencial e propõem medidas de profilaxia e de tratamento.

S U M M A R Y

The authors report one zoonoses, observed in the State of São Paulo, known as pseudo cow pox or paravacinia and related by the etiology to an affection of the milker's hand, called milker's nodules.

They describe three typical cases of this zoonoses from the clinical point of view.

A viral cause has been assumed for this zoonoses.

The authors study the zoonoses, revise the literature about the subject and establish the differential diagnosis, the control measures and the treatment.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem aos eminentes professores Dr. Ramos e Silva, Dr. Paulo Cesar de Azevedo Antunes e ao Dr. Darcy Pinto Soares a orientação, o auxílio e o estímulo que lhes prodigalizaram, de maneira generosa, de modo a tornar possível a publicação deste trabalho.

BIBLIOGRAFIA

1. Andrew, C. G.: Diseases of the skin for practitioners and students. Third ed. Philadelphia, W. B. Saunders, 1946.
2. Hagan, W. A. & Bruner, D. W.: The infectious diseases of domestical animals... Second ed. Ithaca (N. Y.) Comstock Publishing Co., 1951.
3. Hull, T. G. et al.: Diseases transmitted from animal to man. Fourth ed. Springfield (Ill.), Charles C. Thomas, 1955.
4. Katzenellenbogen, I.: Studies on milker's nodules. *Dermatologica*, **105**:69-78, 1952.
5. Pierini, E. L.; Grinson, D. & Ugazio, D.: Nódulos de los ordeñadores. *Arch. arg. Derm.*, **2**:111-119, 1952.
6. Sonk, C. E. & Penttinen, K.: Milker's nodules: transmission from man to man. *Acta derm.-venerol. (Stockh.)* **34**:420-425, 1954.
7. Wheeler, E. C. & Cowley, E. P.: Milker's nodules. *S. med. J. (Bgham, Ala.)* **49**:973-978, 1956. Resumo in *J. A. M. A.*, **162**:1085, 1956.

RELATIVIDADE DO SIGNIFICADO DO ÍNDICE COLIFORME E PROPOSIÇÃO DE ÍNDICE CORRIGIDO °

DACIO DE ALMEIDA CHRISTOVÃO *

A compreensão integral do valor das bactérias coliformes como índice de contaminação de origem fecal é imprescindível ao sanitarista. Sômente é alcançada pela noção exata da posição dessas bactérias no problema. Para êste fim, é indispensável o conhecimento das razões que, na prática do contrôle sanitário, tornaram obrigatória a aceitação de um índice de contaminação, apresentado quase sempre como de caráter apenas potencial, ao invés de provas capazes de afirmar positivamente a presença ou ausência de vírus, bactérias e outros organismos patogênicos no meio, água ou alimento, em consideração. É também necessário saber dos motivos que levaram à seleção das bactérias do grupo coliforme, como aquelas que — nas condições atuais da técnica bacteriológica e de acôrdo com a maioria dos bacteriologistas — podem oferecer maior número de vantagens como reveladoras da presença de matéria de origem fecal; e, finalmente, não se pode prescindir do conhecimento das desvantagens dêsse índice, através da noção da distribuição dos microrganismos coliformes na natureza, noção que deveria ser, pelo menos, suficientemente ampla para o reconhecimento da necessidade de determinações quantitativas dessas bactérias e para a interpretação mais acertada dos resultados. Êsses múltiplos aspectos do problema têm sido largamente discutidos na literatura especializada.

Existe, no entanto, outro ângulo da questão, de importância bem definida, que raras vêzes é referido e até mesmo costuma passar despercebido dos sanitaristas. Poderia ser denominado — a relatividade essencial do índice coliforme.

Provém esta relatividade de que, mesmo em condições ideais (como aquelas encontradas num curso d'água poluído por esgotos domésticos de uma comunidade), êsse índice nos diz simplesmente da maior ou menor poluição fecal do meio considerado, porém, nunca, de per si, da probabilidade de risco de saúde ligado à sua utilização. Êste risco dependerá, exclusivamente, do número de organismos patogênicos existentes nos esgotos poluidores, o que é função da incidência, na comunidade considerada, das infecções ocasionadas por êsses mesmos organismos.

Recebido para publicação em 25-7-1957.

° Trabalho realizado na Cadeira de Microbiologia e Imunologia Aplicadas (Prof. Lucas de Assumpção) da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Apresentado à sessão de 6-8-1956, do Departamento de Higiene e Medicina Tropical da Associação Paulista de Medicina.

* Assistente da Cadeira.

Em conseqüência, é claro que águas ou alimentos — verduras, por exemplo — de regiões diversas, embora poluídas igualmente por esgotos domiciliares e revelando igual freqüência de bactérias coliformes, podem oferecer riscos de saúde muito diferentes, ou, ainda, uma água com baixa densidade desses microrganismos pode, realmente, ser muito mais perigosa que outra com densidade muitas vezes maior.

Decorre daí que somente em áreas de incidência igual, ou não muito diversa, das infecções cujos agentes eliminam-se pelas fezes, pode o atual índice coliforme funcionar como base de comparação e julgamento. No caso contrário, índice igual adotado como padrão, somente virá oferecer um senso de segurança não verdadeiro à comunidade em pior situação sanitária.

É estranhável que tal aspecto do índice coliforme raramente seja mencionado, uma vez que está ligado de maneira íntima à sua razão máxima de ser, i.e., a relação entre o número de bactérias coliformes e o número de organismos patogênicos nos esgotos de comunidades. Esta relação, principalmente a razão *Salmonella typhosa* por milhão de coliformes, tem sido determinada através de várias investigações em diversas partes do mundo. E a evidência acumulada é toda a favor de que ambos os microrganismos, quando sob a influência dos mesmos fatores ambientes, sofrem reduções percentuais iguais, através do tempo. Projetando-se sobre o eixo das abscissas, as unidades do tempo, e sobre o das ordenadas, os logaritmos dos números de microrganismos, obtém-se para as salmonelas e para os coliformes duas retas descendentes e paralelas. Aliás, tal razão igual de diminuição deveria ser facilmente aceitável *a priori*, pois, não seria de esperar que muito, dos fatores naturais de purificação, pelo menos no caso das águas, fossem atuar diversamente sobre microrganismos que não diferem demasiadamente entre si, em relação a caracteres como condições ótimas de multiplicação, tamanho e motilidade, e outros.

Essa relação quantitativa, entre as bactérias coliformes e as patogênicas intestinais, foi estudada por Kehr e Butterfield⁵, em extensa discussão sobre os dados bacteriológicos obtidos através de várias investigações, entre as quais, a longa e excelente série de trabalhos dos London Metropolitan Water Board Laboratories, realizados anualmente, de 1931 a 1938. Tal discussão deixou bastante clara a estabilidade da razão *Salmonella typhosa*/coliformes em esgotos e em águas poluídas por esgotos, apresentando evidência de que se pode esperar a constância de tal razão, mesmo através de reduções bacterianas devidas a processos de purificação natural, aproximando-se de 99,9 por cento. Reafirmaram ainda, os autores mencionados, a relação existente entre o coeficiente de morbidade da febre tifóide e a concentração de *Salmonella typhosa* encontrada nos esgotos de uma comunidade — o que já havia sido observado por outros investigadores e que, naturalmente deveria ser esperado.

A conseqüência de tais fatos é de alcance bastante longo. Torna-se evidente que o valor do índice coliforme, sempre que a poluição puder ser atribuída, pelo menos em parte, a esgotos onde existam microrganismos patogê-

nicos, não pode de maneira alguma ser apresentada como de caráter unicamente potencial, como parece ocorrer comumente. As bactérias coliformes passam, nesses casos, a constituir verdadeira medida de contaminação e indicam, mesmo em densidades apenas moderadamente elevadas, a existência atual de um verdadeiro risco de saúde; pelo menos, a proporção delas proveniente de esgotos terá tal valor. É evidente que, para efeitos práticos, o mesmo se deverá dizer da poluição proveniente de esgotos domiciliares, dos quais não se conheça a frequência de organismos patogênicos, mas onde, dados o número dos seus contribuintes e a taxa de portadores de patogênicos intestinais da região, se deva admitir grande probabilidade da existência de organismos infecciosos. O índice coliforme teria valor apenas potencial somente nos outros casos.

Dois fatos de igual importância, suficientemente bem evidenciados, encontram-se, portanto, relacionados no problema: (a) a densidade de organismos coliformes — em circunstâncias determinadas, pelo menos — não mede unicamente a poluição fecal; é também medida atual da contaminação da mesma origem; (b) a intensidade da contaminação, entretanto, varia com a incidência das moléstias intestinais entre os indivíduos contribuintes da poluição. Daí a relatividade inerente, mencionada anteriormente, do valor das bactérias coliformes na estimativa da contaminação e a conseqüente não comparabilidade, em termos de risco de saúde, de índices determinados em regiões de diferente incidência de doenças cujos agentes etiológicos se eliminam pelas fezes.

Porém, este defeito do índice pode ser corrigido, em grande parte, se nêle se puder introduzir, de maneira apropriada, a medida da incidência das infecções de importância no caso. Para não complicar desnecessariamente tal correção, em busca de uma perfeição impossível de ser obtida, seria necessário, no entanto, levar em consideração apenas a incidência de uma doença bem representativa do grupo epidemiológico, a qual, sem dúvida, parece ser a febre tifóide.

Adotados estes princípios, o problema torna-se fácil.

Para se corrigir, de maneira direta e precisa, o índice coliforme tendo em vista do risco de febre tifóide, necessita-se conhecer a razão *Salmonella typhosa*/coliformes nos esgotos da região onde o índice vai ser considerado — para adoção legal ou, simplesmente, para efeito de comparação de riscos em jôgo — e a razão correspondente nos esgotos da região padrão — que poderia ser aquela onde o índice foi proposto. Evidentemente, se, para densidades iguais de bactérias coliformes, houver nos esgotos da região padrão, em média, metade do número de *Salmonella typhosa* existente nos esgotos de outra região qualquer, é óbvio que, para igualdade de grau de contaminação por bacilos da febre tifóide, ter-se-á de exigir, na última região, índice duas vezes menor que na primeira. A densidade limite de microrganismos coliformes deverá, portanto, variar na razão inversa da frequência relativa de bacilos da febre tifóide.

Nem sempre, porém, será fácil a determinação da relação média *Salmonella typhosa*/coliformes nos esgotos de regiões inteiras. E na própria região padrão poderá ser desconhecida tal relação. O estudo, já referido, realizado por Kehr e Butterfield ⁵, fornece-nos, entretanto, o modo de contornar tal dificuldade, tornando desnecessárias tais determinações e permitindo-nos, embora de maneira simplesmente aproximada, correção indireta do índice coliforme pela medida da incidência de febre tifoide, como sugerido acima.

Aquêles autôres apresentam um gráfico relacionando a razão *Salmonella typhosa*/coliformes com os coeficientes de morbidade de febre tifóide em várias comunidades. Ambas as séries de valores são expressas em logaritmos e a relação entre as mesmas é representada por uma linha reta. Se essa relação fôsse tal que a um aumento de *n* vezes do coeficiente de morbidade correspondesse um aumento de também *n* vezes da razão *Salmonella typhosa*/coliformes, a correção do índice coliforme seria feita pela fórmula :

$$I_{cc} = I_{cp} \left(\frac{C_{mp}}{C_{mo}} \right)$$

onde: I_{cc} = índice coliforme corrigido;

I_{cp} = índice coliforme padrão;

C_{mp} = coeficiente de morbidade padrão, ou seja, coeficiente de morbidade de febre tifóide na área onde o índice padrão foi estabelecido;

C_{mo} = coeficiente de morbidade observado, i.e., coeficiente de morbidade de febre tifóide na região onde se vai considerar o padrão.

Entretanto, a medida da inclinação da reta no gráfico de Kehr e Butterfield, que exprime a diferença de logaritmos da razão *Salmonella typhosa*/coliformes que corresponderia a uma diferença de uma unidade entre os logaritmos dos coeficientes de morbidade, foi verificada ser aproximadamente 0,465. Esse valor, portanto, é o expoente que deve afetar a relação entre os coeficientes de morbidade na fórmula acima, de maneira que o índice coliforme corrigido, tomando-se em conta a relação empiricamente observada nas investigações referidas, poderá ser tomado como :

$$I_{cc} = I_{cp} \left(\frac{C_{mp}}{C_{mo}} \right)^{0,465}$$

Deve-se observar que tal correção não é, de maneira alguma, precisa, nem mesmo para o caso específico do risco de febre tifóide. Como referido pelos próprios autores do gráfico, a posição verdadeira da linha é desconhecida. Grande soma de investigações bacteriológicas seria ainda necessária, antes de

se poder medir precisamente a relação e é de se esperar que haja variações locais que deveriam ser determinadas. A proposição dêste índice corrigido tem os seguintes objetivos: (a) lembrar a relatividade essencial da densidade das bactérias coliformes na estimativa da contaminação — característica do índice freqüentemente esquecida, quando não ignorada; (b) permitir, dentro dos limites do conhecimento atual, a correção aproximada de tal defeito. Seria altamente compensador se a proposição de tal índice pudesse, secundariamente, vir a despertar novamente a atenção sôbre a necessidade de investigações numerosas para o estabelecimento, em bases mais sólidas, da linha representativa da relação desejada.

Como exemplo da aplicação dêste índice corrigido, pode-se tomar em consideração um dos últimos índices coliformes adotados como padrão legal no Estado de São Paulo — o de balneabilidade das águas de locais naturais de recreação. Foi estabelecida, em 1955³, a densidade média mensal de 1.000 coliformes por 100 ml como limite máximo tolerado em tais águas. É êste o padrão mais comum nos Estados Unidos da América do Norte. Embora haja estados norte-americanos que requeiram níveis mais baixos, há também casos de tolerância maior, como o da cidade de Nova Iorque, a qual, sob certas condições, aprova águas com médias não muito afastadas de 2.400⁴. O índice limite adotado no Estado de São Paulo chegou a ser criticado por demasiadamente exigente, argumentando-se com o atraso das condições de saneamento do meio em que vive grande parte de sua população e com o exemplo de padrões mais tolerantes de comunidades sanitariamente mais adiantadas, como Nova Iorque, por exemplo.

Entretanto, a suposta exigência exagerada do padrão de balneabilidade do Estado de São Paulo, existe unicamente na aparência. Realmente, o limite de 1.000 coliformes por 100 ml foi recomendado pela Associação Americana de Saúde Pública¹, em 1942, com o máximo tolerável, adotando, assim, os padrões sugeridos por Scott⁶, para Connecticut, um dos Estados da Nova Inglaterra. Esta região norte-americana apresentou, durante os anos de 1944 a 1950 inclusive, o total de 868 casos de febre tifóide*, ou seja, a média anual de 124. Com base nos dados dos censos de 1940 e 1950, calculando-se pelo método aritmético a população da Nova Inglaterra no ano médio de 1947, obtém-se 9.051.300**, donde se pode estabelecer o coeficiente de morbidade da febre tifóide desta região, no período considerado, como sendo de 1,37. Nos mesmos anos foram notificados 1892 casos de febres tifóide e paratifóides no município de São Paulo e 7830 casos da mesma natureza no interior do Estado***. Embora haja especificação do diagnóstico — clínico somente, na quase totalidade — o número de casos de febres paratifóides é, proporcionalmente, demasiada-

* Publ. Hlth Rep. (Wash.) 60:330-341, 1945; 61:418-426, 1946; 62:400-408, 1947; 63:379-392, 1948; 64:802-806, 1949; 65:632-641, 1950; 66:673-684, 1951.

** United States population (Official census), 1880-1950, in The World Almanack, 1952. p. 397.

*** Dados fornecidos pela Secção de Epidemiologia e Profilaxia Gerais, do Departamento de Saúde do Estado de São Paulo.

mente elevado e não pode ser tomado como real, principalmente conhecendo-se a tendência existente de rotular-se como paratifóide todo caso benigno de febre tifóide e o fato epidemiológico comprovado da raridade das paratifóides nas zonas de baixo nível sanitário. Melhor será considerarem-se apenas 2 por cento do total como possíveis casos de febres paratifóides, baseando-se no que foi encontrado no Laboratório de Saúde Pública do Estado de São Paulo, de 1934 a 1943, onde para 3085 hemoculturas positivas para *S. typhosa*, verificaram-se apenas 57 para *S. schottmuelleri* e 12 para a *S. paratyphi*². Ter-se-á, dêsse modo, o total de 9527 casos de febre tifóide para todo o Estado, o que dá o número médio anual de 1361 casos durante o período mencionado. Relativamente a 8.365.300 habitantes, população do Estado no ano médio de 1947 *, êsse número de casos corresponde ao coeficiente de morbidade de 16,27, valor talvez mínimo, em vista da notificação grandemente deficiente. Ainda assim, aplicando-se a fórmula proposta, ter-se-ia :

$$f_{cc} = 1000 \left(\frac{1,36}{16,27} \right) 0,465 = 315$$

Portanto, para se ter, no Estado de São Paulo, proporção de riscos de saúde mais aproximada à da Nova Inglaterra — zona onde foi proposto pela primeira vez o padrão de balneabilidade de 1000 coliformes por 100 ml — isto é, para se ter, na realidade, padrão mais comparável àquele, dever-se-ia, dentro dos conhecimentos atuais, ter exigido o limite de apenas 300 coliformes por 100 ml. Através da mesma fórmula do índice coliforme corrigido, pode-se ver, também, que o padrão legal de 1.000 coliformes por 100 ml, adotado em São Paulo, equivaleria à densidade de 3.150 na Nova Inglaterra.

RESUMO

Estudos diversos evidenciaram a estabilidade da razão *Salmonella typhosa*/coliformes em esgotos ou águas poluídas por esgotos. Conseqüentemente, a densidade de bactérias coliformes, em muitos casos, constitui medida atual de contaminação e não apenas índice de poluição indicando contaminação potencial.

Entretanto, várias investigações demonstraram, como era de se esperar, a relação entre o coeficiente de morbidade de febre tifóide e a concentração de *S. typhosa* encontrada nos esgotos de uma comunidade. Decorre daí não serem comparáveis, como medida de contaminação, índices coliformes determinados em regiões com diferente incidência de doenças transmitidas pelas fezes.

A fim de corrigir êste defeito do índice, pelo menos quanto à contaminação por bacilos da febre tifóide, doença que poderia ser tomada como representativa do grupo epidemiológico em questão, o A. propõe o emprêgo de um índice coliforme corrigido.

* Anuário estatístico do Brasil, 1948. Rio de Janeiro, Inst. Brasil. Geogr. Estatíst., 1949. p. 43.

Este índice pode ser representado pela fórmula:

$$I_{cc} = I_{ep} \left(\frac{C_{mp}}{C_{mo}} \right)^{0,465}$$

na qual: I_{cc} = índice coliforme corrigido; I_{ep} = índice coliforme padrão; C_{mp} = coeficiente de morbidade de febre tifóide na área onde o índice padrão foi estabelecido; C_{mo} = coeficiente de morbidade de febre tifóide observado na região para a qual se determina o índice. O expoente 0,465 é a medida da inclinação de uma reta estabelecida, em escala logarítmica, por Kehr e Butterfield⁵, a qual relaciona, para diferentes comunidades, a razão *Salmonella typhosa*/coliformes nos esgotos com o coeficiente de morbidade da febre tifóide.

SUMMARY

The stability of the rate *Salmonella typhosa*/coliforms in sewage polluted waters has been established by several studies. Consequently, the density of coliform bacteria is often an actual measure of contamination and not only an index of pollution indicating potential contamination.

However, as it would be expected, many investigations have shown a relation between the typhoid morbidity rate and the concentration of *S. typhosa* found in the sewage of a community. It follows that coliform densities determined in areas with a different incidence of diseases transmitted through feces are not comparable as measures of contamination.

In order to correct this shortcoming of the crude coliform density, the A. proposes the use of a corrected coliform index, which takes on account the morbidity rate of typhoid fever in the community. This disease might be taken as representative of the epidemiological group concerned. The corrected coliform index may be represented by the formula:

$$I_{cc} = I_{sc} \left(\frac{R_{sm}}{R_{om}} \right)^{0,465}$$

where: I_{cc} = corrected coliform index; I_{sc} = standard coliform index; R_{sm} = standard morbidity rate, i.e, the typhoid morbidity rate in the area where the standard index was established; R_{om} = typhoid morbidity rate observed in the area where the coliform index is being determined; 0,465 = slope of the regression line plotted by Kehr and Butterfield⁵ to relate, for different communities, the logarithms of the rate *Salmonella typhosa*/coliforms in the sewage and of the typhoid morbidity rate.

The proposed correction is considered as only a preliminary approximation, since the equation in which it should be based is not known with precision. Extensive bacteriological investigations would still be necessary to establish a more accurate relation.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. American Public Health Association: Recommended practice for design, equipment and operation of swimming pools and other bathing places. Official report, 1942.
2. Bier, O.: Bacteriologia e imunologia em suas aplicações à medicina e à higiene. 8.^a ed. São Paulo, Edições Melhoramentos, 1957. p. 458.
3. Decreto n. 24.806, de 25-7-1955: Regulamenta as leis ns. 2.182, de 23-7-1953 e 3.068, de 14-7-1955. (in Coleção de Leis e Decretos do Estado de S. Paulo, **65**:184-191, 3.^o trim. 1955).
4. Hopkins, E. S. & Elder, F. B.: The practice of sanitation. 2nd ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1951. p. 312.
5. Kehr, R. W. & Butterfield, C. T.: Notes on the relation between coliforms and enteric pathogens. Publ. Hlth Rep., **58**:589-607, 1943.
6. Scott, W. J.: Survey of Connecticut's shore bathing waters. Conn. Hlth Bull. **45**, n. 12 (in Prescott, S. C.; Winslow, C. E. A. & McCrady, M. H.: Water bacteriology. 6th ed. New York, John Wiley, 1947. p. 255).

ESTUDO SÔBRE O *CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE* I — FERMENTAÇÃO DA SACAROSE POR BACILOS DIFTÉRICOS VIRULENTOS ISOLADOS EM SÃO PAULO °

DACIO DE ALMEIDA CHRISTOVÃO *

INTRODUÇÃO

A julgar pelas opiniões expressas por diversos autores de livros de bacteriologia, publicados no último decênio, ainda existe grande controvérsia a respeito da existência de cêpas de *Corynebacterium diphtheriae* capazes de fermentar a sacarose. É importante o esclarecimento desta questão, porquanto, de acôrdo com a maioria, dela dependeria a possibilidade da identificação bioquímica do bacilo diftérico.

Há poucos anos atrás, era opinião sobremaneira generalizada, quase universal entre os bacteriologistas, que o *C. diphtheriae* não exercia qualquer ação sôbre êsse hidrato de carbono, o que podia ser exemplificado pelas palavras — traduzidas textualmente — de Wilson e Miles ⁵⁶, na edição de 1946 dos autorizados “Topley and Wilson’s Principles of bacteriology and Immunity”: “Os hidratos de carbono, empregados mais freqüentemente como substratos de prova para a diferenciação das espécies dentro dêste gênero (*Corynebacterium*), são a dextrose, maltose e sacarose. A espécie tipo, *C. diphtheriae*, produz ácido, mas não gás na maltose e dextrose, porém não ataca a sarcose”.

Realmente, revendo em ordem cronológica, as opiniões dos autores dos livros de bacteriologia geralmente mais difundidos entre nós, publicados até 1950, encontram-se as seguintes opiniões:

1) Kolle e Hetsch ³², citando Rothe, não acusam a possibilidade de fermentação da sacarose pelo bacilo diftérico.

2) Calmette, Negre e Boquet ⁹ afirmam que o bacilo diftérico nunca fermenta êsse hidrato de carbono.

3) Kendall ³⁰ é da mesma opinião.

4) Tanner-Hewlett ⁵⁵ — autor do capítulo sôbre o *Corynebacterium diphtheriae* e os organismos difteróides, no Vol. V. do tratado “A System of Bacteriology in Relation to Medicine”, publicado em 1930 — apresenta a relação de

Recebido para publicação em 25-7-1957.

° Trabalho realizado na Cadeira de Microbiologia e Imunologia Aplicadas (Prof. Lucas de Assumpção) da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Apresentado à sessão de 5-8-1957, do Departamento de Higiene e Medicina Tropical da Associação Paulista de Medicina.

* Assistente da Cadeira.

açúcares atacados ou não pelo bacilo diftérico, na qual a sacarose figura como não sofrendo qualquer ação. Posteriormente, ao discutir o diagnóstico completo desta bactéria, diz que, após o isolamento da cultura pura, o organismo é submetido a exame de coloração e de fermentação, acrescentando "... somente três açúcares são necessários na rotina: a glicose, galactose e sacarose... O bacilo diftérico é constante em suas reações: produz ácido na glicose e galactose, nunca na sacarose... O uso da sacarose permite-nos desprezar os fermentadores da sacarose".

5) Besson ⁴ afirma que o "bacilo da difteria... é sem ação sobre a sacarose..."

6) Belding e Marston ³ também consideram o *C. diphtheriae* como sem ação sobre o dissacarídeo.

7) Park e Williams ⁴⁷ apresentam quadro de fermentações, que atribuem a Knapp, no qual a sacarose é dada como não atacada pelo bacilo da difteria.

8) No Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, edição de 1939, Murray e Breed ⁴³, revisores do capítulo "*Corynebacteriaceae*", também apresentam o *C. diphtheriae* como não fermentando esse hidrato de carbono.

9) Lacorte ³⁴ referindo-se a este bacilo, considera-o como sem ação sobre a sacarose.

10) Colien e Odegard ¹² são da mesma opinião.

11) Carvalho Lima ³⁵ diz: "Para a identificação, lançar mão dos meios contendo açúcar". E apresenta quadro de fermentações, no qual a sacarose figura como não atacada.

12) Nos "Diagnostic Procedures and Reagents", da Associação Americana de Saúde Pública, edição de 1945, Frobisher ¹⁹, autor do capítulo sobre o bacilo diftérico, ao tratar das suas características culturais, diz que os organismos que atacam a sacarose podem ser desprezados, rotineiramente. Chama a atenção, entretanto, para *addendum* no final do capítulo, no qual observa que, após ter preparado o artigo, encontrara cêpas virulentas fermentando a sacarose, o que tornava não verdadeiras as observações relativas à identificação por provas de fermentação.

13) Jordan e Burrows ²⁷ não admitem nenhuma ação do *C. diphtheriae* sobre o dissacarídeo.

14) Zinsser e Bayne-Jones ⁶⁰, citando os resultados de Zinsser, dão a sacarose como não atacada.

15) Simmons e Gentzkow ⁵², autores dos "Laboratory Methods of the United States Army", dizem que a reação no meio com sacarose é negativa.

16) Whitby ⁵³ segue a mesma opinião.

17) Ortiz Patto ⁴⁶ ao citar as propriedades bioquímicas do bacilo diftérico em relação aos hidratos de carbono, nada refere sobre a sacarose, dando-o como fermentador da glicose e da levulose e de ação variável sobre a gelaetose, maltose, amido, dextrina e glicerina. Entretanto, ao tratar do diagnóstico, diz que o *C. diphtheriae* se diferencia do *C. xerose*, por atacar a glicose, a dextrina e a sacarose, enquanto o último não fermenta a dextrina.

18) Stitt e Clough ⁵⁴ referem o bacilo da difteria como sem nenhuma ação sobre a sacarose.

19) Mueller ⁴¹, autor do capítulo sobre o bacilo diftérico em "Bacterial and Mycotic Infections of Man", editado por Dubos, diz: "O bacilo da difteria tipicamente... não fermenta a sacarose".

20) Murray e Breed ⁴⁴, na 6.^a edição, de 1948, do "Bergey's Manual of Determination Bacteriology" admitem que algumas cêpas fermentam a sacarose.

21) Mackie e McCartney ³⁶, na oitava edição de seu livro, de 1949, não admitem ação do *C. diphtheriae* sobre o dissacarídeo em questão.

22) Frobisher ¹⁸, na edição de 1949 de seu livro, apresenta as "reações usuais de fermentação de algumas *Corynebacteria* comuns" em forma de quadro, encontrando-se o diftérico como sacarose negativo.

23) Bier ⁵, na edição de 1949, apresenta as fermentações de glucídios em tabela atribuída a Hohn, 1938, na qual a ação do bacilo da difteria sobre a sacarose é dada como negativa.

Vê-se, pois, que dos autores dos vinte e três livros citados, publicados antes de 1950, não tomando em consideração o caso incompreensível de Ortiz Patto, apenas quatro não manifestavam inteiramente a mesma opinião que Wilson e Miles, exposta no início desta introdução: Frobisher, relatando em "addendum" nos "Diagnostic Procedures and Reagents" de 1945, o achado de cêpas virulentas fermentadoras da sacarose e, em seu livro, apresentando a não fermentação deste açúcar como reação usual; Mueller, em 1948, adotando aparentemente o mesmo ponto de vista, ao restringir também com um "tipicamente", não muito enfático, o caráter de não fermentador da sacarose, atribuído classicamente ao bacilo e Murray e Breed, também em 1948, dizendo claramente que algumas estirpes eram capazes de atacar o dissacarídeo.

Daquela data para cá, inverteu-se a posição dos autores de compêndios de bacteriologia, restando muitos, entretanto, a negar a possibilidade da existência de cêpas de diftéricos capazes de fermentar a sacarose. Assim:

1) Bryan e Bryan ⁸, 1950, ainda afirmam que o *Corynebacterium diphtheriae* não ataca aquêle hidrato de carbono.

2) Sartory, Sartory e Meyer ⁵⁰, 1950, apresentam a mesma opinião.

3) Na terceira edição, de 1950, dos "Diagnostic Procedures and Reagents" da Associação Americana de Saúde Pública, Frobisher ²⁰ repete o que

afirma em "addendum" na edição anterior, observando que cêpas fermentando a sacarose haviam sido encontradas e acrescentando que a sua existência, conquanto não comum nos Estados Unidos em 1947, roubava às provas de fermentação muito do seu valor.

4) Bier⁶, na edição de 1951, já chamou a atenção sobre os resultados obtidos pelo presente autor¹¹. Nas edições sucessivas de 1953, 1955 e 1957⁷, apresenta o estudo da fermentação da glicose e sacarose como permitindo, apenas via de regra, distinguir o bacilo da difteria dos difteróides. Em tabela de caracteres bioquímicos, apresenta o *C. diphtheriae* como podendo ou não atacar a sacarose.

5) Mueller⁴², na segunda edição de 1952, do livro "Bacterial and Mycotic Infection of Man", ainda editado por Dubos, mantém a mesma pequena restrição, apresentada em 1948: "O bacilo da difteria tipicamente... não fermenta a sacarose".

6) Kolmer, Spaulding e Robinson³³, 1951, relatam que o "*C. xerose*... é separado do *C. diphtheriae* pela fermentação da glicose e da sacarose e pelo crescimento em meios de caldo simples", parecendo deixar claro que não admitem a possibilidade de fermentação da sacarose pelo bacilo diftérico.

7) Agasse-Lafont¹, 1952, afirma textualmente que o bacilo da difteria não ataca a sacarose.

8) Smith, Conant, Beard, Pope, Shap e Poston⁶¹, na décima edição, de 1952, do "Zinsser's Textbook of Bacteriology", após apresentarem o *C. diphtheriae* como sem ação sobre esse açúcar, acrescentam: "As reações de fermentação, no entanto, não são constantes. Algumas cêpas toxígenas de *intermedius* fermentam a sacarose".

9) Schaub e Foley⁵¹ devem admitir a fermentação do dissacarídeo, porquanto na edição de 1952, afirmam que a única maneira válida de identificar o bacilo da difteria é a demonstração da produção de toxina, acrescentando que a morfologia de colônia ou da bactéria são apenas sugestivas e que os caracteres bioquímicos não têm nenhum sentido.

10) Na nona edição, de 1953, de seu "Handbook of Practical Bacteriology", Mackie e Mc Cartney³⁷ ainda são da opinião que o *C. diphtheriae* não fermenta a sacarose. Todavia, registram em nota de rodapé: "Tem sido afirmado que ocasionalmente, cêpas podem fermentar a sacarose".

11) Jawetz, Melnick e Adelberg²⁶, 1954, apresentam o bacilo diftérico como não atuando sobre a sacarose.

12) Wilson e Miles⁵⁷, na edição de 1955 dos "Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity", referem à pág. 541: "Os hidratos de carbono usados comumente para distinguir as espécies deste gênero são a dextrose maltose e sacarose. Dêstes, o *C. diphtheriae* fermenta os dois primeiros; a sacarose é atacada somente por estirpes ocasionais. O *C. xerose* fermenta

todos os três açúcares e o *C. hoffmanni* nenhum..." À pág. 554 conservam, entretanto, o texto da edição anterior: "O *C. diphtheriae* fermenta a glicose, galactose e maltose, com produção de ácido, mas sem nenhum gás. Não tem nenhuma ação sobre a sacarose e manita".

13) Gastinel²³, na décima edição, de 1957, apresenta o dissacarídeo em questão como não sofrendo nenhuma ação por parte do bacilo diftérico.

Em seis dos livros mencionados, publicados de 1950 para cá, ainda se encontra, portanto, a afirmação de que o *Corynebacterium diphtheriae* nunca fermenta a sacarose.

Por outro lado, revendo os trabalhos realizados sobre a ação fermentativa do *C. diphtheriae*, vê-se que sempre houve bacteriologistas que relataram terem observado fermentação da sacarose. A literatura a respeito da controversa ação do bacilo sobre esse dissacarídeo é extensa e começa muito cedo. Embora pareça estranho, dada a simplicidade do fato investigado, a questão data de sessenta anos atrás. Citando apenas os estudos mais importantes, encontramos os que seguem:

Theobald Smith⁵³, em 1896, parece ter sido o primeiro a investigar este ponto, chamando a atenção sobre a ausência de produção de ácido em caldo contendo sacarose.

Martin³⁸, em 1898, foi o primeiro a afirmar o contrário. No célebre trabalho em que estuda fatores de importância na produção da toxina diftérica e no qual apresenta seu clássico "caldo de bucho" (bouillon de panse) — hoje mundialmente adotado e conhecido por caldo-Martin — ao tratar das causas que favorecem a produção de acidez, cita, entre outras, a presença de sacarose.

Seguem-se dados inconclusivos de alguns investigadores e o primeiro trabalho de importância é o de Knapp³¹, publicado em 1904. Este bacteriologista por sugestão de Hiss, estudou a capacidade fermentadora do bacilo diftérico e de difteróides, empregando o meio de água-sêro com tornassol como indicador, que Hiss empregara pela primeira vez, em 1902, na diferenciação do pneumococo e do estreptococo. O meio de Hiss representou avanço notável na técnica bacteriológica, permitindo a aplicação de provas de produção de ácido em larga escala, com grande número de hidratos de carbono, de maneira muito mais simples que a do método de titulação empregado até então. Dessa maneira, Knapp investigou a ação de 27 cêpas de bacilos diftéricos, 10 de bacilos "xerosis" e 4 de "pseudo-diftéricos" sobre vários hidratos de carbono e apresentou várias conclusões, entre elas a da não fermentação da sacarose pelo verdadeiro bacilo da difteria, conclusão à qual atribuiu grande importância diferencial.

Grahm-Smith²⁴, em 1906, investigando 23 cêpas de bacilos diftéricos típicos, dos quais 19 virulentos, não pôde notar nenhuma mudança de reação nos meios contendo sacarose. Posteriormente, porém, examinando bacilos de vários surtos ocorridos em pequenas cidades ou aldeias, onde, possivelmente, teria havido fonte única de infecção, observou que 16 estirpes isoladas de 5

surtos pequenos também não atacaram aquêlo açúcar; entretanto, 19 das 22 estirpes provenientes de surto maior, o fermentaram. Concluiu o célebre bacteriologista inglês que sòmente poucas cêpas atuam sôbre êsse dissacarídeo.

Segue-se, em 1908, o trabalho de Zinsser⁵⁹, duplamente importante, pelos cuidados tomados pelo grande bacteriologista e pela fama do autor. Logo na introdução, diz Zinsser: "Knapp... alcançou conclusões definidas, as quais, se confirmadas, devem tender a simplificar consideravelmente o trabalho de identificação". Em seguida, cita autores que não confirmaram os achados de Knapp e acrescenta: "Em vista da importância de deixar estabelecido conclusivamente se as provas de fermentação de açúcares fornecem ou não dados dignos de fé na identificação das bactérias do grupo, que nos são conhecidas no presente, o autor acreditou valer a pena percorrer o terreno novamente. O trabalho de Knapp, além disso, requeria desenvolvimento maior, uma vez que na sua publicação nenhuma referência foi feita à virulência das bactérias por êle classificadas como verdadeiros bacilos de Klebs-Loeffler".

Zinsser estudou 42 cêpas de *C. diphtheriae*, 21 de *C. xerose* (algumas das quais fornecidas por Knapp), 8 de bacilo de Hoffmann e algumas cêpas de bacilos não classificados, semelhantes ao bacilo da difteria. Das cêpas de bacilos diftéricos, 39 eram tipicamente virulentas para cobaias. A primeira conclusão de Zinsser foi: "1. Que o *B. hoffmanni*, o *B. diphtheriae* e o *B. xerosis* podem ser diferenciados, rapidamente, nos meios de água-sôro-açúcar; o primeiro, não formando ácido com nenhum dos açúcares empregados; os dois últimos, diferindo em que o *B. diphtheriae* fermenta a dextrina, mas não a sacarose, e o *B. xerosis* fermenta a sacarose, mas não a dextrina. Isto confirma o trabalho de Knapp".

Hine²⁵, em 1913, examinando 15 cêpas de bacilos diftéricos virulentos para cobaia, também não encontrou nenhuma atacando a sacarose, ao que atribuiu enorme valor diferencial.

Em 1916, Moshage e Kolmer⁴⁰, realizaram estudo em escala bem maior, examinando 392 culturas de bacilos do grupo diftérico, isolados em Philadelphia, 59% isolados de material da garganta, 21% de origem nasal e o restante proveniente de casos de otite média supurada, da pele e de olhos. Tôda as culturas foram submetidas a provas de virulência em animal. Os autores admittiram como critério de virulência sinais de toxemia geral e, mesmo, a simples presença de edema no local de inoculação. Não empregaram provas de neutralização específica, o que torna discutível, na sua totalidade, a classificação apresentada. Concluíram pela fermentação da sacarose por grande percentagem, 20,8, das 154 cêpas virulentas encontradas.

Durand¹³, em 1921, examinando 224 cêpas de bacilos diftéricos, perfeitamente típicos e virulentos, encontrou 7, classificadas como do tipo II, que atacaram a sacarose.

Eagleton e Baxter¹⁴, em 1922, entre 33 culturas virulentas isoladas de casos clínicos de difteria, encontraram duas fermentando a sacarose, porém,

tornando a passá-las em placa, verificaram que se achavam contaminadas. Quando livres de contaminação, não mais atacaram êsse açúcar. O mesmo vieram suceder com uma dentre 30 culturas virulentas isoladas de portadores. Concluíram que os bacilos diftéricos, em cultura realmente pura não fermentam aquêlê açúcar.

Jordan, Smith e Kingsbury ²⁸, estudaram, em 1922, 74 cêpas virulentas e 32 avirulentas. Nenhuma cêpa virulenta atacou a sacarose.

Okell e Baxter ⁴⁵, em 1923, não observaram a fermentação da sacarose nenhuma vez, ao estudarem a capacidade fermentativa de 100 cêpas virulentas.

Christiansen ¹⁰, ainda em 1923, publicou sua monografia sôbre o bacilo da difteria. Um de seus estudos referia-se à fermentação de açúcares e dêle concluiu que o bacilo diftérico não ataca a sacarose. Suas observações eram baseadas, neste particular, na ação de 15 cêpas toxígenas e algumas não toxigênicas.

Barratt ², em 1924, dentre 102 cêpas virulentas, não encontrou nenhuma acidificando a sacarose.

Em 1936, Perry, Whitley e Petram ⁴⁸, estudando 285 cêpas de *C. diphtheriae*, também não encontraram nenhuma fermentando a sacarose.

Frobisher ¹⁵, estudou os caracteres bioquímicos de cêrca de 158 cêpas de bacilos diftéricos de virulência conhecida. Nenhuma atacou a sacarose.

Em 1945, Frobisher, Adams e Kuhne ²¹, encontraram, entre 169 cêpas virulentas isoladas em Baltimore, 4 que fermentaram a sacarose. Deram a êste fato grande realce, uma vez que Frobisher, conhecido pelos seus trabalhos sôbre o bacilo da difteria, ainda não o havia observado, apesar de, já em 1942 ¹⁶, ter acumulado uma coleção de mais de 2.000 corinebactérias, tôdas perfeitamente documentadas quanto a propriedades biológicas.

Mauss e Keown ³⁹, de South Dakota, em 1946, também comunicaram o achado de bacilos diftéricos virulentos fermentadores da sacarose, relatando terem, no espaço de dois anos, isolados 4 cêpas de ação nítida e constante sôbre aquêlê dissacarídio.

Desta revisão dos estudos principais realizados na Europa ou nos Estados Unidos, todos publicados até 1946, resulta a evidencição nítida de existência de bacilos diftéricos virulentos fermentadores da sacarose. No entanto, poucos foram os investigadores que os encontraram. O fato de nenhum caso dessa ordem ter sido registrado na Inglaterra ou nos Estados Unidos de 1920 a 1945, aliado aos resultados negativos obtidos antes dessa época por pesquisadores do renome de Knapp ³¹ e, principalmente Zinsser ⁵⁹, deve ter sido a causa de a maioria dos bacteriologistas passarem a ignorar essa possibilidade, o que se fêz refletir nos livros de texto da matéria. Os achados de Frobisher e cols. ²¹, em 1945, e de Mauss e col. ³⁹, no ano seguinte, confirmaram modernamente a existência de cêpas com tal propriedade fermentativa, porém, ainda assim, comprovando seu caráter excepcional.

Entretanto, em 1943, Rangel Pestana e Quirino Ferreira⁴⁹, haviam publicado importante trabalho, investigando as propriedades bioquímicas de 1.452 cêpas isoladas, na maioria, de doentes de difteria recolhidos ao hospital de isolamento "Emílio Ribas" de São Paulo, e identificadas pela sua morfologia como típicas de *C. diphtheriae*. Encontraram 184, 12,6%, fermentando a sacarose. Relataram os autores: "Das raças típicas de *C. diphtheriae* que fermentaram a sacarose, algumas foram inoculadas em cobaias e verificada a sua virulência e toxigenicidade, pela Dra. Jandira Planet do Amaral, do Instituto Butantan, tendo tôdas elas demonstrado serem virulentas e produzir toxina".

Fenômeno ocorrendo na proporção de 12,8%, evidentemente, não podia mais ser classificado como excepcional e tornava obrigatória a mudança completa da concepção da classificação dessa bactéria pelas propriedades fermentativas. Todavia, não tendo os autores mencionados realizado a pesquisa da virulência das amostras identificadas pela sua morfologia como típicas de *C. diphtheriae*, tornava-se impossível o conhecimento exato da percentagem de diftéricos capazes de fermentar a sacarose, pois, é conhecida a possibilidade de falha do critério de identificação adotado. Por outro lado, o fato de não terem mencionado o número das "algumas" cêpas, dentre as 184 classificadas como diftéricos fermentadores da sacarose, que submeteram às provas de virulência, com resultado positivo, também não permitia estimar-se a probabilidade de sua freqüência relativa, mesmo dentro dos critérios adotados. Oitrossim, seria desejável que tivessem incluído contrôles do meio básico de fermentação utilizado.

Em vista disso e dada a importância da questão, resolveu o presente autor, em fins de 1949, retomar o seu estudo. Empreendeu o isolamento de corynebactérias a partir de material colhido de doentes com casos típicos ou suspeitos de difteria, recolhidos ao Hospital de Isolamento "Emílio Ribas", de São Paulo. Tôdas as cêpas isoladas, com caracteres do gênero *Corynebacterium*, foram submetidas a provas de fermentação e à prova intradérmica de virulência em coelho, sendo esta sempre controlada por segunda prova, realizada no mesmo animal, após proteção pela antitoxina específica. Por ocasião do Quinto Congresso Internacional de Microbiologia, realizado em Agosto de 1950, tendo acumulado dados suficientes para perfeito esclarecimento do problema, foram êles comunicados àquele organismo¹¹. Haviam sido isoladas 95 cêpas de bacilos diftéricos virulentos, das quais 19, ou seja 20%, tinham, indubitavelmente fermentado a sacarose. Portanto, ficou comprovada a existência em São Paulo, e em extraordinária proporção, de bacilos da difteria virulentos, dotados da controvertida propriedade de atacar a sacarose. Êstes estudos foram continuados e a apresentação dos novos resultados encontrados constitui o objetivo principal dêste trabalho. Entretanto, tendo sido publicados apenas os resumos das investigações apresentadas ao referido congresso e não os seus Anais, que iriam trazer na íntegra os trabalhos comunicados, será aproveitada a oportunidade para a apresentação detalhada também daqueles primeiros resultados.

TÉCNICAS

Fonte de material — Todo material colhido para o isolamento dos bacilos diftéricos, estudados nesta investigação, foi obtido, em chumaço comum de algodão, pelas enfermeiras do Serviço de difteria do Hospital de Isolamento “Emílio Ribas” de São Paulo, que o retiraram de doentes confirmados ou suspeitos de difteria, ali internados. Todos os pacientes, quando o material foi colhido, já tinham recebido anti-toxina diftérica e tratamento local por penicilina.

Isolamento — Os chumaços de algodão, com o material colhido para exame, foram passados em placas de agar-sangue-telurito de Kellog e Wende²⁹, um dos três meios recomendados por Frobisher e cols.²² em seu estudo sobre a eficiência de sete meios de telurito.

Colônias suspeitas foram inoculadas em tubos de meio de Loëffler. Tôdas as cêpas apresentando caracteres morfológicos de *Corynebacterium*, após cuidadoso exame microscópico para comprovação de sua pureza, foram submetidas a provas de fermentação de hidratos de carbono e, independentemente do resultado destas, a provas de virulência em animal. Sempre que surgia qualquer dúvida quanto à pureza de cêpa, era ela passada em placa de agar-sangue-telurito, realizando-se assim seu reisolamento.

Provas de fermentação — A ação sobre hidratos de carbono foi investigada em dois meios de cultura diferentes, um sólido, empregado no serviço de rotina do Departamento de Microbiologia da Faculdade de Higiene e Saúde Pública, e o outro líquido, usado por Rangel Pestana e Quirino Ferreira⁴⁹. Suas fórmulas respectivas:

A) A agar-Martin, pH 7,4 — juntar:

Hidrato de carbono	1%
Indicador de Andrade	1%

Esterilizar em vapor fluente durante 15 minutos; após *resfriar*, adicionar 20% de sôro de cavalo; distribuir em tubos e inclinar.

B) Sôro de cavalo	200 ml
Água destilada	800 ml
Fosfato dissódico	1 g
Fenol vermelho em sol. a 0,2%	10 ml
Hidrato de carbono	10 g

Diluir o sôro em 600 ml de água, ajustar ao pH 8,4 e adicionar mais 3 ml de solução normal de sôda. Autoclavar 20 minutos a 120°C. Dissolver a peptona e o fosfato de sódio em 200 ml de água,

ferver e juntar à solução do sôro acima preparada. Completar o volume a 1000 ml com água destilada e ajustar ao pH 7,6. Juntar o hidrato de carbono e o indicador. Esterilizar em vapor fluente por 30 minutos.

Os hidratos de carbono empregados foram da marca Baker's, C. P.

Tôdas as cêpas com caracteres morfológicos de *Corynebacterium* foram inoculadas em séries de ambos os meios, contendo os hidratos de carbono mais comumente empregados no caso. As cem primeiras cêpas isoladas foram inoculadas também em tubos de contrôle de ambos os meios básicos de fermentação, preparados exatamente segundo as fórmulas e métodos já descritos, apenas não se juntando nenhum hidrato de carbono.

Os tubos inoculados foram incubados a 37°C, sendo a leitura realizada diàriamente, durante uma semana.

Provas de virulência — Submeteram-se tôdas as cêpas morfológicamente semelhantes a *Corynebacterium* a provas de virulência em animal, empregando-se a técnica adaptada de Fraser, recomendada por Frobisher¹⁹. Esta prova é realizada intradêrmicamente em coelho. Inclui a verificação da especificidade das reações positivas — caracterizadas pelo aparecimento de área de necrose — pela neutralização da ação toxigênica do germe na prova contrôle, a qual é efetuada após a administração de anti-toxina diftérica ao mesmo animal. A inclusão da prova contrôle não permite nenhuma dúvida sôbre a verdadeira identidade e virulência das cêpas positivas.

RESULTADOS

Ambos os meios de prova de fermentação funcionaram satisfatôriamente. Todos os diftéricos virulentos e tôdas as corinebaetérias que, embora avirulentas, puderam ser diagnosticadas como diftéricos, provocaram em 24 horas mudança de côr do meio dos hidratos de carbono por êles atacados. Não houve, durante os sete dias de observação, nenhum caso de reversão da côr do indicador. Houve concordância quase total entre os resultados observados em ambos os meios. A mudança de côr foi, porém, sempre mais intensa no meio sólido, no qual foi suficientemente nítida para não deixar dúvida quanto à leitura. Nenhum tubo testemunha do meio sólido teve sua côr alterada dentro dos sete dias de observação. Em alguns casos, os tubos testemunhas do meio líquido apresentaram leve mudança de côr nas primeiras 48 horas de incubação, posteriormente havendo, porém, completa reversão à côr original.

Das 18 primeiras cêpas de bacilos isolados e diagnosticados como diftéricos virulentos, 5 fermentaram a sacarose. Apesar de não haver a menor suspeita quanto à pureza destas cêpas, foram tôdas passadas em placa de agar-sangue-telurito. Após fazer esfregaços com material colhido de várias colônias e verificar que todos revelavam igual evidência de pureza de colônia, inocularam-se séries de tubos de fermentação com material colhido de três colônias te-

madras ao acaso de cada placa. Em todos os casos repetiu-se a acidificação dos meios contendo sacarose.

Em vista desses resultados, não mais se realizou tal operação, passando-se a agir apenas com os rigorosos cuidados usuais, já descritos.

Na primeira parte deste trabalho, já comunicada, isolaram-se 95 cêpas de bacilos diftéricos virulentos, das quais 18, ou 20%, fermentaram a sacarose. Destas 19, 10 foram submetidas a outro contrôle, sendo inoculadas nos meios de fermentação, sólido e líquido, contendo sacarose, porém, sem a adição de sôro. Atacaram o açúcar da mesma maneira, embora mais lentamente; a mudança de côr só apareceu após 48 horas de incubação.

Para mais um contrôle dos meios usados e da sacarose, inocularam-se 24 cêpas de *Salmonella typhosa* nos meios sólido e líquido contendo êsse açúcar. Não provocaram a menor alteração de côr do indicador durante os 7 dias de observação.

Com a continuação do estudo, foram isoladas outras 98 cêpas virulentas e destas, mais surpreendentemente, 35, ou seja 35,7%, atacaram aquêle hidrato de carbono.

Ao todo, de 193 cêpas virulentas, 54 fermentaram o dissacarídeo, o que corresponde à elevada percentagem de 28%.

Releva notar que 166 cêpas virulentas, das quais 45 fermentadoras da sacarose, foram enviadas ao Dr. M. Frobisher Jr., renomado por sua extensa série de trabalhos sôbre o bacilo diftérico, entre muitas outras investigações, e então diretor do "Bacteriology Branch" do "Communicable Disease Center", Atlanta, Ga., U.S.A. Em seus laboratórios, nossas verificações foram tôdas confirmadas por sua colaboradora, Dra. Elizabeth I. Parsons.

DISCUSSÃO

Os resultados aqui referidos deixaram perfeitamente comprovado que existem em São Paulo, em freqüência muito elevada, cêpas de *Corynebacterium diphtheriae*, isoladas de casos clínicos de difteria, virulentas para animal, dotadas da propriedade de fermentar a sacarose. Os cuidados tomados não permitem outra conclusão.

Realmente, a possibilidade da acidificação não ser devida à fermentação da sacarose e sim à da pequena quantidade de hidratos de carbono normalmente existente no agar-infusão empregado no meio sólido, ou no sôro de cavalo empregado em grande quantidade em ambos os meios, foi afastada pelos resultados negativos obtidos em todos os tubos testemunhas dos meios básicos.

A possibilidade da fermentação da sacarose ser devida à presença de hidrolases existentes no sôro também não pode ser aceita, porquanto, no meio líquido empregado, o sôro é submetido a 120°C, durante 20 minutos antes de ser posto em contacto com o açúcar, o que inativaria qualquer enzima porven-

tura presente. Além disso, as provas positivas obtidas com 10 das 19 primeiras cêpas virulentas fermentadoras da sacarose, realizadas pela sua inoculação em ambos os meios contendo sacarose, porém, sem qualquer quantidade de sôro, servem de prova adicional à rejeição desta hipótese.

Restaria, como causa de êrro, a questão da maneira pela qual foi esterilizada a sacarose, dada a possibilidade de seu desdobramento por ação do calor. A temperatura e o tempo usados, entretanto — vapor fluente por 15 minutos, para o meio sólido, e por 30 minutos para o meio líquido — deveriam excluir essa possibilidade. Além disso, no trabalho em que relata o achado de cêpas fermentadoras de sacarose, Frobisher e colab.²¹ mostrou que não há diferença nenhuma entre a esterilização dêsse hidrato de carbono por autoclavagem ou por filtração.

Têm-se, ainda, os resultados negativos obtidos com 24 cêpas de *S. typhosa*.

A par dêstes argumentos, que nos parecem suficientes, existe a valiosa comprovação dos nossos resultados nos laboratórios do Dr. M. Frobisher Jr. Note-se ainda, que o meio básico para a prova de fermentação empregado por Frobisher¹⁵ é diferente daqueles usados nesta investigação, e não contém sôro.

Impõe-se, portanto, a conclusão acima referida e é interessante observar a aparente ascensão da freqüência relativa de tais bacilos. Rangel Pestana e Quirino Ferreira⁴⁹, em 1943, relataram o achado de 12,6%. Em 1950, comunicamos o achado de 20%; posteriormente, na série isolada no ano seguinte, a percentagem dos fermentadores de sacarose subiu a 35,7. Devendo a extensa série estudada por aquêles investigadores corresponder a mais de um ano de observações, deveríamos comparar a percentagem achada por êles com a de 28 encontrada no conjunto de nossos dados. Ainda assim, nota-se um aumento extraordinário.

Para êsse aumento, de 12,6 a 28, não ser real, teríamos de admitir estarem em operação um ou mais dos fatores hipotéticos seguintes:

a) O material recebido por nós para isolamento provinha todo de doentes já internados, às vêzes há mais de um dia. Tratava-se de pacientes já medicados, pela antitoxina específica e por tratamento local com penicilina. É de se acreditar que o material recebido por Rangel Pestana e Quirino Ferreira⁴⁹, na seção de diagnóstico de difteria do Instituto Adolfo Lutz (Laboratório de Saúde Pública do Estado de São Paulo), fôsse mais recente e, em muitos casos, pelo menos, até mesmo anterior à medicação. O isolamento foi por nós realizado em placa de agar-sangue-telurito, enquanto aquêles pesquisadores usaram meio com telurato de sódio. Em nosso caso, foram isolados bacilos que podiam ser classificados como diftéricos, de apenas 60% dos casos. A percentagem verdadeira de doentes com lesões ocasionadas por *C. diphtheriae* é desconhecida. Supondo ser substancialmente maior que aquela encontrada, a percentagem não revelada — além da proporção normalmente não evidenciável — poderia ser devida, primeiramente, a influência dos tratamentos, e em segundo lugar a alguma possível ação impediante do telurito. Se

esses agentes exercem ou não ação seletiva sobre os bacilos não fermentadores de sacarose, facilitando o isolamento em maior proporção das bactérias dotadas da propriedade de atacar esse açúcar, nada se sabe; seria improvável, mas, *a priori* nada se pode afirmar.

b) O fato do material que recebíamos para isolamento ser retirado de pacientes já internados a algum tempo, às vészes dias, na enfermaria de difteria, não permite desprezar-se a possibilidade de terem ocorrido infecções cruzadas. Parte das cêpas fermentadoras de sacarose poderiam ter tido essa origem. Ainda aqui, Rangel Pestana e Quirino Ferreira⁴⁹, tendo recebido material mais recente, proveniente de pacientes com nenhum ou menor estágio no hospital, não teriam tido oportunidade de encontrá-las na mesma frequência por nós revelada. Se este possível fator interveniente seria capaz de explicar a diferença observada entre nossos dados e os dos autores citados, nada se poderá adiantar.

Cabe ressaltar, entretanto que, mesmo dentro das condições em que foi efetuada esta investigação, foi observado aumento da incidência de diftéricos fermentadores de sacarose de um ano para o outro, de 20 para 35,7%. Esta diferença mostra-se significativa estatisticamente, não podendo ser atribuída a simples flutuação de amostra, e para ela não se pode imaginar nenhum fator intercorrente.

Para concluir, parece, portanto, não restar dúvida sobre a existência em São Paulo, em proporção considerável, de bacilos diftéricos virulentos capazes de atacar rápida e vigorosamente a sacarose, nem sobre o aumento de sua frequência relativa, verificado neste estudo. A elevada incidência de tais bacilos parece ainda mais extraordinária ao lembrar que há poucos anos a sua simples existência era negada por bacteriologistas dos mais renomados.

Foi visto, na introdução desta investigação, que vários autores de livros de bacteriologia recentemente editados ainda apresentam o *Corynebacterium diphtheriae* como absolutamente incapaz de atacar a sacarose. Mesmo nos livros onde se admite a possibilidade dessa fermentação, vê-se que, em quase todos, o fato é apresentado como excepcional. Isso tudo poderia levar, ainda hoje, bacteriologistas menos avisados a confiarem na identificação bioquímica clássica das corinebactérias, desprezando como difteróides todos os bacilos fermentadores da sacarose. Tal fato poderia trazer sério erro sobre o conhecimento da incidência comprovada da difteria nos locais, como São Paulo, onde as afirmativas referidas não correspondem absolutamente à realidade.

RESUMO

O autor, em 1950, comunicou ao V Congresso Internacional de Microbiologia, reunido no Rio de Janeiro, o achado, entre 95 cêpas diagnosticadas indubitavelmente como bacilos diftéricos virulentos, de 19 ou 20%, capazes de fermentar rápida e vigorosamente a sacarose. Não tendo sido publicados os trabalhos apresentados ao referido congresso, relata agora aquela investigação, assim como seu prosseguimento.

Em estudo posterior, isolou mais 98 cêpas virulentas, encontrando 35, ou seja a elevada proporção de 35,7%, capazes de atacar aquêle açúcar. Assim, isolou em São Paulo, de casos clínicos de difteria, 193 cêpas virulentas de *C. diphtheriae*, das quais 54, ou 28% fermentaram a sacarose. Os ensaios de virulência foram realizadas intradêrmicamente em coelho, pela técnica de Frazer, a qual inclui a verificação da especificidade das reações positivas por segunda prova no mesmo animal, após sua proteção antitoxina diftérica. A ação sôbre a sacarose foi verificada pela inclusão dos contrôles apropriados, os quais excluíram a possibilidade do efeito observado ser devido quer a hidratos de carbono presentes nos meios básicos de cultura quer a enzimas sacarolíticas do sôro empregado nos mesmos meios.

Tem sido negada por inúmeros bacteriologistas a possibilidade do *Corynebacterium diphtheriae* fermentar a sacarose. Êste açúcar tem ocupado posição chave na identificação bioquímica das corinebactérias, permitindo sua fermentação distinguir o difteróide *C. xerose* do bacilo diftérico. A quase totalidade dos bons compêndios de bacteriologia, publicados até 1950, registrava opinião de acôrdo com êsse ponto de vista. Dos livros editados desde então, alguns ainda mantêm igual afirmativa, parecendo ter a maioria, todavia, passado a admitir a capacidade de cêpas de bacilos diftéricos fermentarem aquêle hidrato de carbono. Quase todos, entretanto, dão a êste fato o cunho de excepcional, o que poderia levar ainda ao emprêgo da identificação bioquímica clássica das corinebactérias. Erros sérios adviriam daí ao conhecimento da incidência comprovada da difteria em locais, como São Paulo, onde tal fato absolutamente não corresponde à realidade.

SUMMARY

In a preliminary communication to the 5th International Congress of Microbiology, in 1950, the author reported the occurrence, in a group of 95 strains of undoubtedly virulent diphtheria bacilli, of 19 strains (20 per cent) which were able to ferment saccharose vigorously and promptly.

In a subsequent investigation, 35 new saccharose fermenting strains were found among 98 virulent strains isolated (like those of the first group) from clinical cases of diphtheria in São Paulo, an incidence of 35.7 per cent.

The virulence tests were performed intradermally in rabbits according to Frazer's technique, which includes a control of the specificity of the positive tests. Controls of the action on saccharose were included, ruling out the possibility of the observed effect being due to the presence of either other carbohydrates in the basic culture media or of saccharolytic enzymes in the serum incorporated to these media.

The possibility of *Corynebacterium diphtheriae* to ferment saccharose has been denied by many bacteriologists. The fermentation test with this carbohydrate has been therefore used in the biochemical identification of *Corynebacteria*, in order to differentiate the diphtheria bacillus from *C. xerose*.

Several text-books of bacteriology, in recent editions, admit the possibility of occasional strains of *C. diphtheriae* attacking that sugar. Since strains exhibiting this property are considered as exceptional, the usual biochemical classification of *Corynebacteria* might still be resorted to, leading to an underestimation of the incidence of *C. diphtheriae* infections in areas where the forementioned strains are rather frequent, as it occurs in São Paulo.

AGRADECIMENTOS

Nossas verificações foram integralmente confirmadas nos laboratórios do Dr. Martin Frobisher Jr. (*Bacteriology Branch, Communicable Disease Center, Atlanta, Ga., U.S.A.*), a quem enviamos a grande maioria das cêpas isoladas, conforme relatado no estudo ora apresentado. Ao Dr. Frobisher Jr. e a sua colaboradora, Dra. Elizabeth I. Parsons, somos imensamente gratos.

ACKNOWLEDGEMENTS

Our findings have been confirmed in the laboratories of Dr. Martin Frobisher Jr. (*Bacteriology Branch, Communicable Disease Center, Atlanta, Pa., U.S.A.*) to whom we have sent the great majority of our strains, as described in this paper. To Dr. M. Frobisher Jr. and to his collaborator, Dr. Elizabeth I. Parsons, we are very grateful.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agasse-Lafont, E.: Le laboratoire: notions générales de chimie, biologie, bacteriologie, cytologie, sérologie... Paris, Vigot Frères, 1952. 2v.
2. Barratt, M. M.: A study of *C. diphtheriae* and other members of the *genus Corynebacterium* With special referente to fermentative activity. *J. Hyg.* **23**:247, 1924.
3. Belding, D. L. & Marston, A. T.: A text-book of medical bacteriology. New York, D. Appleton-Century Co., 1938.
4. Besson, A.: Technique microbiologique et sérothérapique. 8e ed. Paris, J. B. Baillière et Fils, 1930. 2v.
5. Bier, O.: Bacteriologia e imunologia em suas aplicações à medicina e à higiene. 4.^a ed. São Paulo, Edições Melhoramentos, 1949.
6. —: Bacteriologia e imunologia em suas aplicações à medicina e à higiene. 5.^a ed. São Paulo, Edições Melhoramentos, 1951.
7. —: Bacteriologia e imunologia em suas aplicações à medicina e à hagiene. 8.^a ed. São Paulo, Edições Melhoramentos, 1957.
8. Bryan, A. H. & Bryan, C. G.: Principles and practice of bacteriology. Third ed. New Yerk, Barnes & Noble. 1950.
9. Calmette, A.; Nègre, L. & Boquet, A.: Manuel technique de microbiologie et sérologie. Paris, Masson & Cie, 1925.
10. Christiansen, M.: Le bacille de la diphtérie. Paris, Gaston Doin, éditeur, 1923.

11. Christovão D. de A.: Fermentação da sacarose por bacilos diftéricos virulentos (in Congresso Internacional de Microbiologia. 5.º, Rio de Janeiro, 1950 :Resumos dos trabalhos. Rio de Janeiro, Instituto Oswaldo Cruz [1950]. p. 83).
12. Colien, F. E. & Odegard, E. J.: Principles of microbiology. St Louis, The C. V. Mosby Co., 1941.
13. Durand, P.: Action des bacilles diphtériques sur les hydrates de carbone. C. R. Soc. Biol. (Paris), **84**:982-983, 1921.
14. Eagleton, A. J. & Baxter, E. M.: The virulence of diphtheria-like organisms. Brit med. J. **1**:139-140, 1922.
15. Frobisher, M. (Jr): Some biological properties of *C. diphtheriae*. Amer. J. Hyg., **28**:1-12, 1938.
16. —: Properties of strains of *Corynebacterium diphtheriae* obtained from various parts of the United States. Amer. J. Publ. Hlth, **32**:709-719, 1942.
17. —: Fundamentals of bacteriology. Third ed. Philadelphia, W. B. Saunders Co., 1944.
18. —: Fundamentals of bacteriology. Fourth ed. Philadelphia W. B. Saunders Co., 1949.
19. —: The diphtheria bacillus (in American Public Health Association: Diagnostic procedures and reagents, 2nd ed. New York, 1945. p. 270-305).
20. —: The diphteria bacillus (Ibid. 3rd ed. 1950. p. 156-190).
21. —; Adams, M. L. & Kuhns, W. J.: Characteristics of diphteria bacilli found in Baltimore since November, 1942. Proc. Soc. exp. Biol. & Med. (N. Y.) **58**:330-334, 1945.
22. —; Parsons, E. I.; Yeates, E. L. & Gay, K. L.: A comparative study of tellurite plating media for *Corynebacterium diphtheriae*. Amer. J. Hyg., **48**:1-5, 1948.
23. Gastinel, P.: Précis de bacteriologie médicale. 10e. ed., Paris, Masson et Cie., 1957.
24. Graham-Smith, G. S.: The diphteria bacillus. (in Nuttal, G. H. F. & Graham-Smith, G. S.: The bacteriology of diphteria. Cambridge, University Press, 1913. p. 122-448).
25. Hine, T. G. M.: Biochemical reactions of diphteria-like organisms. J. Path. Bact., **18**:75-80, 1913-1914.
26. Jawetz, E.; Melnik, J. L. & Adelberg, E. A.: Review of medical microbiology. Los Altos (Calif.), Lang Medical Publications, 1954.
27. Jordan, E. O. & Burrows, W.: Textbook of bacteriology. 14th ed. Philadelphia, W. B. Saunders Co., 1945.
28. Jordan, J. A.; Smith, F. & Kingsbury, A. N.: Pathogenicity of the diphtheria group: a study of the relation of morphological and cultural characteristics of the diphtheria group of bacilli to pathogenicity; with a note on the lesions resulting from animal inoculation. Lancet, **2**:1052-1056, 1922.
29. Kellog, D. K. & Wende, R. D.: Use of potassium tellurite medium in the detection of *C. Diphtheriae*. Amer. J. Publ. Hlth, **36**:739-745, 1946.
30. Kendall, A. I.: Bacteriology. General, pathological, intestinal. 3rd ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1928.
31. Knapp, A.: The differentiation of *Bacillus diphtheriae*, *Bacillus xerosis* and *Bacillus pseudo-diphtheriae* by fermentation tests in the serum-water media of Hiss. J. Med. Res., **12**:475-481, 1904.

32. Kolle, W. & Hetsch, H.: La bacteriologie expérimentale appliquée a l'étude des maladies infectieuses. 3e ed. française d'après la 4e ed allemande. Paris, Octave Doin, 1918.
33. Kolmer, J. A.; Spaulding, E. H. & Robinson, H. W.: Approved laboratory technic. 5th ed. New York, Appleton-Century-Crofts, Inc., 1951.
34. Lacorte, J. G.: Compendio de bacteriologia e imunologia. 3.^a ed. Rio de Janeiro, Editôra Guanabara, 1940.
35. Lima, J. P. de C.: Baeteriologia. 4.^a ed. 1945.
36. Mackie, T. J. & Mc Cartney, J. E.: Handbook of practical bacteriology. 8th ed. Edinburgh, E. S. Livingstone Ltd, 1949.
37. —: Handbook of practical bacteriology. 9th ed. Edinburgh, E. S. Livingstone Ltd, 1953.
38. Martin, L.: Production de la toxine diphthérique. Ann. Inst. Pasteur, **12**:26-46, 1898.
39. Mauss, E. A. & Keown, M. J.: Saccharose-fermenting diphtheria bacilli. Science, **104**:252-253, 1946.
40. Moshage, E. L. & Kolmer, J.: A study of acid-production by diphtheria bacilli. J. Infect. Dis., **19**:19-27, 1916.
41. Mueller, J. H.: The diphtheria bacilli and the diphtheroids. (in Dubos, R. J.: Bacterial and mycotic infections of man. Philadelphia, J. B. Lippincott Co., 1948. p. 196-216).
42. —: The diphtheria bacilli. (Ibid., 2nd ed. 1952. p. 222-243).
43. Murray, E. G. D. & Breed, R. S.: Genus I. *Corynebacterium* Lehmann and Neumann. (in Bergey's Manual of determinative bacteriology. 5th ed. Baltimore, The Williams & Wilkins Co., 1939).
44. —: Family VIII. *Corynebacteriaceae* Lehmann and Neumann. (Ibid., 6th ed. 1948. p. 381-411).
45. Okell, C. C. Baxter, E. M.: Fermentative reaction of different types of *B. diphtheriae*. Lancet, **1**:436-437, 1923.
46. Ortiz Patto: Compêndio de bacteriologia. 2.^a ed. Rio de Janeiro, Editôra Capitôlio Ltda, 1947.
47. Park, W. H. & Williams, A. W.: Pathogenic microorganisms. 11th ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1939.
48. Perry, C. A.: Whitley, O. R. & Petran, E.: Types of *C. diphtheriae* in Maryland. Amer. J. Hyg., **23**:580-599, 1936.
49. Pestana, B. R. & Ferreira, M. F. Q.: Considerações sôbre algumas propriedades bioquímicas do bacilo de difteria. Rev. Inst. Adolfo Lutz, **3**:32-43, 1943.
50. Sartory, A.: Sartory, R. & Meyer, J.: Microbiologie pratique. Paris, Librairie Maline, 1950.
51. Schaub, I. G. & Foley, M. K.: Diagnostic bacteriology. St Louis, C. V. Mosby Co., 1952.
52. Simons, J. S. & Gentzkow, C. J.: Laboratory methods of the United States Army. 5th ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1946.
53. Smith, T., citado in 40.
54. Stitt, E. R.; Clough, P. W. & Branham, S. E.: Pratical bacteriology, hematology and parasitology. 10th. ed. Philadelphia, Blackiston co.. 1948.

55. Tanner-Hewlett, R.: *Corynebacterium diphtheriae* and diphtheroid organisms. (in Medical Research Council: A system of bacteriology in relation to medicine. London, 1930, v. 5, 67-150).
56. Topley and Wilson's Principle of bacteriology and immunity. 3rd ed. rev. by G. S. Wilson and A. A. Miles. Baltimore, Williams and Wilkins Co., 1946. 2v.
57. —. 4th ed. rev. by G. S. Wilson and A. A. Miles. Baltimore, Williams and Wilkins Co., 1955. 2v.
58. Whitby, L.: Medical bacteriology. 4th ed. London, J. & A. Churchill Ltd., 1947.
59. Zinsser, H.: A study of the diphtheria group of organisms; with special reference to fermentation reactions. J. med. Res., 17:277-289, 1908.
60. — & Bayne-Jones, S.: Tratado de bacteriologia; traduzido da 8.^a ed. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, 1947.
61. Zinsser's Textbook of bacteriology. [10th ed. rev. by] David T. Smith [et al.] New York, Appleton Century Crofts, Inc., [c1952].

ESTUDO SÔBRE O *CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE* II — OBSERVAÇÕES SÔBRE BACILOS DIFTÉRICOS E DIFTERÓIDES ISOLADOS EM SÃO PAULO: ASPECTO MORFOLÓGICO, PROPRIEDADES FERMENTATIVAS, VI- RULÊNCIA E FREQUÊNCIA DOS TIPOS DE *CORYNE- BACTERIUM DIPHTHERIAE* ENCONTRADOS ^o

DACIO DE ALMEIDA CHRISTOVÃO *

INTRODUÇÃO

“Há poucos assuntos em bacteriologia que tenham dado lugar a tanta controvérsia como a ação do bacilo diftérico sôbre os açúcares. Os resultados obtidos pelos diversos autores mostram numerosas divergências. Estas divergências parecem ser devidas sobretudo ao meio empregado, à maior ou menor pureza do açúcar e à pouca sensibilidade do indicador”. Estas palavras de Besson ³, na edição de 1930 de seu livro sôbre a técnica bacteriológica e soroterápica, conservam ainda a atualidade de quando foram escritas. Se as diferenças de opinião, ocasionadas por impurezas dos hidratos de carbono, estão desaparecendo, devido à alta qualidade mais uniformemente atingida pelas marcas geralmente empregadas, todavia perduram as outras causas de desacôrdo. O bacteriologista que usa meios que satisfazem melhor as exigências metabólicas do *Corynebacterium diphtheriae*, ou indicador de viragem em pH ácido não muito afastado do neutro, ou ambas as cousas, tem de chegar a conclusões bem diversas das alcançadas pelo emprêgo de substratos nutritivos deficientes e indicadores de maior grau de acidez. A falta de uniformidade na técnica dos pesquisadores continua sendo grande fonte de diversidade de resultados. Embora decorridos 130 anos do início da distinção e do agrupamento científico das bactérias por Ehrenberg e um século após a classificação de Cohn, passados mais de 70 anos do nascimento da moderna técnica bacteriológica nas mãos de Koch e meio século depois da introdução por Hiss da pesquisa simplificada da ação fermentativa bacteriana, ressen-te-se ainda a bacteriologia da falta de normas técnicas, que permitam realmente a comparação dos resultados obtidos pelos diversos investigadores. Seria altamente compensador que a tarefa de uniformização das técnicas bacteriológicas fôsse empreendida vigorosamente. Os conhecimentos necessários de há muito se acham acumula-

Recebido para publicação em 25-7-1957.

^o Trabalho realizado na Cadeira de Microbiologia e Imunologia Aplicadas (Prof. Lucas de Assumpção) da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Apresentado à sessão de 5-8-1957, do Departamento de Higiene e Medicina Tropical da Associação Paulista de Medicina.

* Assistente da Cadeira.

dos, pelo menos para a grande maioria das bactérias de interesse sanitário e médico.

Entretanto, no que se refere ao bacilo diftérico, tornou-se patente que existe outra causa para a divergência de opiniões encontradas na literatura mundial. Trata-se da ocorrência de variedades diversas, dotadas de caracteres fermentativos próprios, cuja frequência relativa pode ser bastante variável de região para região, podendo ainda na mesma área flutuar de ano para ano. Não é de admirar, portanto, que estudos baseados em número relativamente pequeno de amostras, isoladas em épocas diferentes e locais diversos, possam apresentar até mesmo resultados contraditórios.

Em São Paulo foi comprovada a existência de cepas de *C. diphtheriae* virulentas, fermentadoras de sacarose, em alta incidência, atingindo até a 35,7%⁵. Tal fato veio complicar a identificação do microrganismo. Em países onde cepas dotadas de tal propriedade parecem ser inexistentes ou são raríssimas, a diferenciação das corinebactérias, isoladas de casos suspeitos de difteria, costuma ser feita através de provas bioquímicas simplicíssimas, valendo-se do emprego de provas de fermentação de apenas dois açúcares, a glicose e a sacarose. Tendo tal esquema clássico perdido todo o significado para a região de São Paulo, resolveu o autor verificar o comportamento de cepas de diftéricas e difteróides, isoladas nesta cidade, não só em relação aos dois glucídios citados, como também à destrina e a à glicerina, compostos de maior probabilidade de utilização no diagnóstico bioquímico das corinebactérias de interesse no caso.

TÉCNICAS

Fonte de material — Todas as cepas estudadas foram isoladas a partir de material obtido de doentes suspeitos ou confirmados de difteria, recolhidos ao Hospital de Isolamento Emílio Ribas de São Paulo, no decorrer de 1949 e 1950.

A colheita do material para exame foi realizada pelas enfermeiras da seção de difteria. Por ocasião da colheita, a todos os doentes já havia sido administrada antitoxina diftérica e a maioria também já recebera tratamento local por penicilina.

Isolamento e provas de fermentação e virulência — As técnicas empregadas no isolamento das corinebactérias e nas provas de fermentação e virulência a que todas as cepas isoladas foram submetidas já se acham descritas em trabalho anterior⁵, no qual também os vários controles empregados em ambos os tipos de provas foram detalhados.

A prova de virulência empregada, de inoculação intradérmica em coelho, é extraordinariamente econômica comparada à prova clássica de inoculação subcutânea em cobaia. Foram realizadas quase 400 provas, as quais com seus controles — feitos simultaneamente — exigiram apenas 40 coelhos, em vez das quase 800 cobaias que se fariam necessárias para a prova clássica.

Classificação dos tipos de bacilo diftérico — A grande maioria das cêpas de *Corynebacterium diphtheriae* isoladas foi enviada ao Dr. M. Frobisher Jr. Em seus laboratórios, foram classificadas em tipos por sua colaboradora Dra. Elizabeth I. Parsons, que também verificou e comprovou nossos resultados relativos à virulência, ou avirulência, e capacidade de fermentar ou não a sacarose apresentadas pelas mesmas.*

A técnica empregada por Frobisher para a determinação dos tipos foi descrita em um dos seus trabalhos⁷. Foi também detalhada no capítulo "O Bacilo da Difteria (*Corynebacterium diphtheriae*)"⁸, escrito por êsse pesquisador para os "Diagnostic Procedures and Reagents" da Associação Americana de Saúde Pública. Compreende a determinação das 6 propriedades originalmente descritas por Anderson, Happold, McLeod e Thomson¹, que caracterizam os tipos *gravis*, *mitis* e as formas intermediárias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfologia e propriedades fermentativas — a) Foram isoladas 378 cêpas de bactérias com as características morfológicas e tintoriais do gênero *Corynebacterium*. A classificação da morfologia foi realizada de maneira simplificada, considerando-se as corinebactérias apenas como semelhante ou não semelhantes ao bacilo diftérico e subdividindo-se a primeira classe unicamente em dois grupos, as de morfologia típica e aquelas cujas características morfológicas não obedeciam integralmente aos tipos clássicos mais comumente descritos pelos vários autores, designados como "não típicas", existindo toda uma gradação de formas de um a outro extremo da escala morfológica das corinebactérias, é evidente que nem mesmo tal divisão mais simples está ao abrigo de erros, havendo necessariamente bacilos que um técnico classificaria num grupo e que, possivelmente, seriam atribuídos à classe imediata por outro observador.

Tôdas as cêpas foram submetidas a prova de virulência e inoculadas nos dois meios básicos de fermentação⁵, sólido e líquido, contendo glicose, dextrina ou sacarose. As últimas 137 cêpas isoladas foram inoculadas, além disso, nos mesmos meios básicos com glicerina. O meio sólido permitiu leitura mais rápida e mais nítida. Tôdas as cêpas virulentas, nesse meio, atacaram a glicose, dextrina e sacarose (quando foi o caso) em 24 horas. A acidificação do meio contendo glicerina, freqüentemente se processou no terceiro dia de incubação e, às vezes, somente no quarto dia. Provas duvidosas surgiram unicamente entre os difteróides, tendo mesmo ocorrido casos de reversão durante os 7 dias de incubação.

* — Os dados constantes da tabela VI referem-se justamente às cêpas enviadas ao Dr. M. Frobisher Jr. A observação relativa à fermentação de dextrina e glicerina, porém, é de exclusiva responsabilidade do autor.

No meio líquido houve grande tendência à reversão da mudança de cor do meio contendo dextrina. Em considerável percentagem dos casos a prova passou de positiva a duvidosa. Com algumas cêpas deu-se mesmo reversão completa, de cor, voltando à original no quinto dia. Ainda nesse meio a glicerina não foi fermentada por 4 cêpas virulentas. Por outro lado, com o meio líquido muito raramente se obteve fermentação da dextrina ou da glicerina com corinebactérias que tudo levava a crer se tratasse de difteróides.

b) A tabela I apresenta a distribuição das 378 cêpas de corinebactérias isoladas, por virulência e aspecto morfológico. As percentagens relativas a cada tipo morfológico, encontradas entre as cêpas virulentas e entre as não virulentas e também as percentagens de cêpas virulentas e de não virulentas dentro de cada classe morfológica são apresentadas. É visível a associação de alto grau existente entre morfologia típica e virulência. Deve-se observar, entretanto, que 7,3% das cêpas virulentas tiveram o aspecto morfológico descrito como "não típico" ou, vista a questão de outro lado, verifica-se que uma de cada quatro cêpas de morfologia "não típica" mostrou-se virulenta; nota-se mesmo o achado de uma cêpa virulenta atípica, descrita como não semelhante a bacilo diftérico.

Na tabela II vê-se que tôdas as 193 cêpas de diftéricos virulentos fermentaram a glicose e a dextrina e na tabela III, que tôdas as 66 cêpas virulentas experimentadas também atacaram a glicerina. A ação sobre a sacarose é variável e, dada a sua importância especial, foi objeto de comunicação anterior⁵.

Ainda, relativamente ao aspecto morfológico, entre as cêpas de corinebactérias avirulentas, pode-se verificar, pelos dados da tabelas II e III, que daquelas que não atacaram nem a glicose, nem a dextrina e nem a sacarose (que poderiam ser identificadas, muito provavelmente, como *C. pseudo-diphtheriticum* e certamente como não sendo *C. diphtheriae*), 15 e 24%, respectivamente, foram descritas como de morfologia semelhante ao bacilo diftérico, "não típica". A reconhecida possibilidade de falha do critério morfológico de identificação é patente.

Quanto às fermentações observadas entre as corinebactérias avirulentas, vê-se na tabela II que tôdas as combinações de resultados com a glicose, dextrina e sacarose foram encontradas, com uma única exceção: não foram isoladas bactérias atacando somente a dextrina e sacarose. O simples fato de ter aparecido uma cêpa que somente atacou a dextrina, retira à fermentação deste hidrato de carbono o valor diferencial absoluto que se pudesse querer emprestar-lhe. Observado os dados da tabela, vê-se claramente que não é possível tomar nenhuma combinação de resultados como absolutamente específica do bacilo diftérico. O máximo que se poderia concluir, dos resultados encontrados, é que o *C. diphtheriae*, tipicamente, apresenta morfologia bastante característica e, no meio de cultura sólido empregado, ataca a glicose e a dextrina, fermentando ou não a sacarose.

TABELA I

Distribuição das Cêpas de Corinebactérias por Virulência e Morfologia

Virulência \ Morfologia	Semelhante a bac. diftérico		Não semelhante a bac. diftérico	TOTAL
	típica	não típica		
positiva	178	14	1	193
	(92,2)* (92,2)	(7,3) (25,5)	(0,5) (0,8)	(100,0)
negativa	15	41	129	185
	(8,1) (7,8)	(22,2) (74,5)	(69,7) (99,2)	(100,0)
Total	193	55	130	378
	(100,0)	(100,0)	(100,0)	

* O primeiro número entre parênteses é a percentagem sôbre o total da linha; o segundo é a percentagem sôbre o total da coluna.

Na tabela III os resultados são análogos. Observa-se que das 16 combinações possíveis de resultados, 9 foram encontradas. Há uma cêpa atacando unicamente a glicerina. Há 4 cêpas fermentando só a glicose e a glicerina, das quais uma de aspecto morfológico semelhante a *C. diphtheriae*. Se, pelo menos esta se trata de bacilo diftérico avirulento, não fermentador de dextrina e sacarose, nada se pode afirmar. O mesmo se diria das 6 cêpas que atacaram a glicose, dextrina e sacarose. Dentre elas se encontram duas com morfologia de *C. diphtheriae* e não é possível negar nem afirmar sua condição de diftéricos não fermentadores da glicerina. Ainda aqui, com base nos resultados encontrados, apresentados na tabela III, apenas se poderia dizer que, tipicamente, o bacilo diftérico, além de apresentar morfologia bastante característica, fermenta, no meio sólido empregado, a glicose, dextrina e glicerina, atacando ou não a sacarose.

c) Entretanto, os dados revelados por esta investigação parecem indicar que a bactéria, mesmo morfológicamente semelhante ao bacilo diftérico, que — ainda no meio sólido empregado — deixar de fermentar a glicose, ou a dextrina, ou a glicerina, terá pequena probabilidade de ser *C. diphtheriae*. Este ponto de vista seria apoiado, não só pelo fato de entre as cêpas virulentas não se ter observado nenhuma que não fermentasse essas três substâncias como também pelo que se poderia concluir da freqüência relativa das cêpas morfológicamente não semelhantes a bacilo diftérico, dentro de cada classe de tipo fermentativo e de acôrdo com o caráter de virulência.

Realmente, já foi visto, pela tabela I, que, das 193 cêpas virulentas isoladas, apenas uma teve seu aspecto morfológico classificado como não semelhante ao *C. diphtheriae*. A morfologia deveria constituir, portanto, um caráter identificador bastante valioso. Que não pode, no entanto, ser conside-

TABELA II — Distribuição das cêpas de corinebactérias isoladas, por virulência, morfologia e fermentação da glicose, dextrina e sacarose nas várias combinações possíveis.

Virulência	MORFOLOGIA		HIDRATOS DE CARBONO FERMENTADOS*							TOTAL	
			Os três	Dois		Um		Nenhum			
			Go D S	Go — —	Go D S	— D S	Go — —	— D —	— — S		— — —
+	Semelhante a bacilo diftérico	típica	49	129	—	—	—	—	—	—	178
		não típica	—	9	—	—	—	—	—	—	14
		sub-total	54	138	—	—	—	—	—	—	192
	Não semelhante a bac. diftérico		—	1	—	—	—	—	—	—	1
—	Semelhante a bacilo diftérico	típica	3	12	—	—	—	—	—	—	15
		não típica	11	10	2	—	5	—	—	13	41
		sub-total	14	22	2	—	5	—	—	13	56
	Não semelhante a bac. diftérico		18	8	8	—	19	1	4	71	129
Total			86	169	10	—	24	1	4	84	378

* — Go = Glicose; D = Dextrina; S = Sacarose.

TABELA III — Distribuição de cêpas de corinebactérias, por virulência, morfologia e fermentação da glicose, dextrina, sacarose e glicerina, nas combinações possíveis.

Virulência	MORFOLOGIA		COMPOSTOS FERMENTADOS*														TOTAL		
			Os quat.	Três				Dois					Um			Nenhum			
				Go D S Gi															
+	Semelhante ao bacilo diftérico	típica	19	—	42	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	61
		não típica	1	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4
	sub-total	20	—	45	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	65
	Não semelhante a bac. diftérico		—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
—	Semelhante ao bacilo diftérico	típica	2	1	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6
		não típica	5	1	6	—	—	—	1	1	—	—	—	2	—	—	—	8	24
	sub-total	7	2	9	—	—	—	1	1	—	—	—	2	—	—	—	8	30	
	Não semelhante a bac. diftérico		1	4	1	—	—	—	2	3	—	—	3	—	1	1	25	41	
Total			28	6	56	—	—	—	3	4	—	—	5	—	1	1	33	137	

* — Go = Glicose; D = Dextrina; S = Sacarose; Gi = Glicerina.

rada caráter absoluto, prova-o, não somente o que já foi referido atrás, como também o fato de, entre as cêpas não virulentas que, segundo o critério fermentativo adotado por muitos bacteriologistas, poderiam ser classificadas como *C. diphtheriae*, existir, em percentagem bem maior do que entre as virulentas, cêpas classificadas como de morfologia "semelhante" à do bacilo diftérico, porém, apenas "não típica". Isto é bem visível, por exemplo, tomando-se as cêpas fermentadoras somente da glicose e dextrina, apresentadas na tabela II. Enquanto entre as virulentas se encontram 9 "semelhantes, não típicas" para 129 "semelhantes, típicas" — numa relação de 7/100 — pode-se ver que, entre as não virulentas, são encontradas 10 "semelhantes, não típicas" para 12 "semelhantes, típicas" — numa relação de 83/100. O mesmo parece mostrar a tabela III, se fôrem consideradas tanto as cêpas fermentadoras de glicose, dextrina e glicerina, como as que atacaram também a sacarose. Das virulentas, no primeiro caso, 3 são "não típicas" e 42, "típicas", e no segundo, 1 e 19, respectivamente. A relação é de 7/100 no primeiro grupo e de 5/100 no segundo. Entre as não virulentas, há 6 "não típicas" para 3 "típicas" no primeiro grupo fermentativo e 5 para 2, no segundo, com inversão das razões respectivas. Encontra-se, assim, ao se passar das cêpas virulentas para as não virulentas, grande aumento da razão "não típicas"/"típicas". Isso indicaria que a ausência de virulência é freqüentemente acompanhada de mudança de morfologia, não se tratando, muitas vezes, de fenômeno isolado, e que os caracteres morfológicos não somente não são absolutos, como têm valor identificador muito maior entre as cêpas virulentas do que entre as não virulentas, onde, justamente, surgem os problemas de identificação.

Apesar disso, permanece o valor relativo do aspecto morfológico como critério de identificação e passando-se a examinar a relação "número de cêpas não semelhantes" sobre o "número de semelhantes", nota-se claramente tendência à evidenciação de outro aspecto, que parece ser de valor. Os dados são poucos para permitir conclusão definitiva, mas seriam bastante indicativos.

Pode observar-se, com efeito, na tabela III, que as cêpas virulentas, como já referido, somente se apresentaram fermentando a glicose, dextrina e glicerina ou êsses três compostos e a sacarose. Entre as não virulentas, pertencentes a êsses tipos fermentativos, verifica-se o já discutido aumento da relação "cêpas de morfologia semelhante a bacilos diftéricos, não típicas"/"semelhantes, típicas". Em ambas as classes, porém, nota-se a existência de apenas uma cêpa "não semelhante", enquanto entre todos os outros tipos fermentativos as "não semelhantes" predominam, inclusive entre as cêpas que fermentaram a glicose, dextrina e sacarose. Isso parece indicar que a fermentação da glicerina, além daquela da glicose e dextrina, teria real valor diagnóstico, porquanto somente a dextrina, além da glicose, não permite a obtenção de resultados dessa ordem. Tal argumento encontra apoio no fato de se encontrarem na tabela II, entre as cêpas avirulentas que atacaram a glicose, a dextrina e a sacarose, a presença de 18 "não semelhantes" para somente 14 "semelhantes". Não pareceria aceitável considerar tôdas como *C. diphtheriae*, permanecendo,

portanto, a impressão de que unicamente a capacidade de fermentar a dextrina não deve constituir critério suficiente de distinção entre o *C. xerose* e o *C. diphtheriae* fermentador da sacarose e que a propriedade de atacar também a glicerina, além da glicose e dextrina, seria característica do bacilo diftérico.

Fica implícita, obviamente, a admissão da existência de corinebactérias fermentadoras de glicose, dextrina e sacarose, não identificáveis a bacilo diftérico.

Pode-se demonstrar ainda de outra maneira a aparente importância da glicerina. Dentre as 185 cêpas avirulentas, 129 eram morfológicamente “não semelhantes” a bacilo diftérico (tabela I); considerando-se, nas tabelas II, tôdas as cêpas avirulentas que fermentaram a glicose e a dextrina (colunas Go D S e Go D), encontram-se 62, das quais 26 (42%) não semelhante morfológicamente a bacilo diftérico; quando se toma em consideração também a fermentação da glicerina (tabela III, colunas Go D S Gi e Go D Gi), sòmente 2 (11%), das 18 cêpas avirulentas que atacaram os três compostos, não se assemelham a *C. diphtheriae*.

Por outro lado, 13 das 84 cêpas avirulentas (tabela IV) que não fermentaram nenhuma das substâncias experimentadas assim como 6 das 20 cêpas (tabela V) que deixaram de atacar um ou dois dos três compostos — glicose, dextrina e glicerina — eram morfológicamente semelhantes ao bacilo diftérico, ainda que não típicamente (tabela III).

Assim, se poderia dizer que há indicações de que a corinebactéria que, no meio sólido empregado, deixar de fermentar qualquer das três substâncias — glicose, ou dextrina ou glicerina — terá pequena probabilidade de ser *C. diphtheriae*, mesmo quando formológicamente semelhante ao bacilo diftérico.

Outro ponto interessante a ser observado, de acôrdo com os dados das tabelas II e III, é que a corinebactéria que fermentar a glicose e dextrina sem atacar a sacarose tem grande probabilidade de fermentar também a glicerina, pois que não se encontrou nenhuma cêpa nessas condições que o tivesse deixado de fazer (tabela III). Isso não acontece, como já visto, com as cêpas que fermentaram a glicose, dextrina e sacarose, as quais tanto podem vir a fermentar a glicerina como não.

A simplificação das tabelas II e III, pela classificação das cêpas isoladas apenas em semelhantes ou não ao bacilo diftérico e pela apresentação sòmente das colunas das combinações de fermentações ocorridas, realça as observações referidas, que são melhor avaliadas pela distribuição percentual. As tabelas mencionadas são dessa maneira, transformadas, respectivamente, nas tabelas IV e V (as percentagens são calculadas unicamente com finalidade ilustrativa, pois a freqüência de observações em muitas das classes é demasiadamente pequena para permitir mais que isso).

A investigação dos aspectos revelados pelos dados apresentados, em escala mais extensa, que abrangesse número bem maior de corinebactérias avi-

ruentas, poderia ser estudo de grande valia, permitindo provávelmente atribuir real significado ao que agora se trata de indicação.

Enquanto não forem totalmente esclarecidos os aspectos discutidos, pareceria útil tomar-se o aspecto morfológico semelhante (típica ou não tipicamente) a bacilo diftérico, mais a fermentação da glicose, dextrina e glicerina — no meio de cultura sólido empregado nesta investigação, ou em outro qualquer que forneça resultados idênticos — como característicos do *Corinebacterium diphtheriae*. A incubação das provas de fermentação deveria ser realizada durante uma semana, devido às possibilidades, já mencionadas, de fermentação lenta da glicerina ou da reversão da acidificação do meio.

Tipos de C. diphtheriae: virulência e capacidade de fermentar a sacarose — Das 168 cêpas de bacilos diftéricos, 151 virulentas e 17 avirulentas, cujos tipos foram determinados, vemos, pela tabela VI, que 69,6% são do tipo *mitis* e somente 2,4% do tipo *gravis*; 28% são intermediárias, cabendo 22,6% ao tipo semelhante a *mitis* e 5,4 ao tipo semelhante a *gravis*.

Comparando as percentagens relativas dos vários tipos entre as cêpas virulentas e as avirulentas, nota-se, nas primeiras, tendência a maior proporção do tipo *mitis*, passando as percentagens dos 4 tipos, de *gravis* a *mitis*, de 0,7, 4,0, 23,2 e 72,2 entre as virulentas, a 17,6, 17,6, 17,6, e 47,1 entre as avirulentas. A evidenciação de tal tendência é ainda mais flagrante se fôr feita comparação igual entre os bacilos virulentos sacarose-negativos e os avirulentos, que talvez seria mais apropriada, por não se terem incluído no quadro avirulentos fermentadores de sacarose.

Outro resultado interessante é o fato de 3 das 4 cêpas *gravis* isoladas serem avirulentas e a coincidência da única cêpa *gravis* virulenta ser fermentadora da sacarose. Pode-se observar também, entre as cêpas virulentas, que a sacarose foi fermentada por 19 (17%) das 109 pertencentes ao tipo *mitis*, por 5 (14%) das 35 semelhantes a *mitis*, e por 5 das 6 semelhantes a *gravis*.

Revisão sumária da literatura — Knapp¹³, em 1904, como resultado de sua investigação, apresenta o bacilo diftérico como atacando a dextrina; as cêpas de *C. xerose* experimentadas não a fermentaram. Atribuiu valor diferencial a êsse hidrato de carbono.

Graham-Smith⁹, em 1906, relatou que a maioria das cêpas de *C. diphtheriae*, em condições apropriadas, produz ácido a partir da dextrina e da glicerina.

Zinsser²², em 1908, examinou 42 cêpas de *C. diphtheriae* (39 virulentas) e 21 de *C. xerose*. Concluiu que o bacilo diftérico fermenta a dextrina e o *C. xerose*, não.

Hine¹⁰, em 1913, deu enorme valor à verificação da acidificação da glicose, dextrina e sacarose. As 15 cêpas virulentas que examinou atacaram a dextrina.

Durand⁶, em 1921, examinando 224 cêpas de bacilo diftérico perfeitamente típicas e virulentas, concluiu que os resultados eram variáveis com dextrina e glicerina. Baseado nos resultados de fermentação de vários hidratos

TABELA IV - Distribuição das Cêpas de corinebactérias isoladas, por virulência, morfologia e fermentação da glicose, dextrina e sacarose (Simplificação da tabela II, apresentando também a distribuição percentual*) :

Virulência	Morfologia	HIDRATOS DE CARBONO FERMENTADOS**											
		Go D S		Go D		Go S		Go		D ou S		Nenhum	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
positiva	semelhante a bac. diftérico	54	100,0	138	99,3	—	—	—	—	—	—	—	—
	não semelhante a bac. diftérico	—	—	1	0,7	—	—	—	—	—	—	—	—
	Total	54	100,0	139	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—
negativa	semelhante a bac. diftérico	14	43,7	22	73,3	2	20,0	5	20,8	—	—	13	15,5
	não semelhante a bac. diftérico	18	56,3	8	26,7	8	80,0	19	79,2	5	100,0	71	84,5
	Total	32	100,0	30	100,0	10	100,0	24	100,0	5	100,0	84	100,0

* — Nas classes de freqüência muito pequena, as percentagens são apresentadas com intuito apenas ilustrativo;

** — Go = glicose; D = dextrina; S = sacarose.

TABELA V — Distribuição de Cêpas de Corinebactérias, por virulência, morfologia e fermentação da Glicose, Dextrina, Sacarose e Glicerina (Simplificação da tabela III, apresentando também a distribuição percentual*)

Virulência	Morfologia	COMPOSTOS FERMENTADOS**													
		Go D S Gi		Go D S		Go D Gi		Go S		Go Gi		Go ou Sou Gi		Nenhum	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
positiva	semelhante a b. diftérico	20	100,0	—	—	45	97,8	—	—	—	—	—	—	—	—
	não semelhante a b. diftérico	—	—	—	—	1	2,2	—	—	—	—	—	—	—	—
	Total	20	100,0	—	—	46	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—
negativa	semelhante a b. diftérico	7	87,5	2	33,3	9	90,0	1	33,3	1	25,0	2	28,6	8	24,2
	não semelhante a b. diftérico	1	12,5	4	66,7	1	10,0	2	66,7	3	75,0	5	71,4	25	75,8
	Total	8	100,0	6	100,0	10	100,0	3	100,0	4	100,0	7	100,0	33	100,0

* — Nas classes de freqüência muito pequena, as percentagens são apresentadas com intuito apenas ilustrativos;

** — Go = glicose; D = dextrina; S = sacarose; Gi = glicerina.

TABELA VI — Distribuição de Cêpas de *Corynebacterium Diphtheriae* por tipo, virulência e capacidade fermentar de a sacarose*

Virulência	Fermentação da sacarose	Não submetidas a classificação em tipos	CLASSIFICAÇÃO EM TIPOS										TOTAL
			MITIS		Semelhantes a MITIS		Semelhantes a GRAVIS		GRAVIS		Sub-total		
			N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
Virulentos	Sacarose — . .	0	90	74,4	30	24,8	1	0,8	0	0,0	121	100,0	121
	Sacarose + . .	15	19	63,3	5	16,7	5	16,7	1	3,3	30	100,0	45
	Sub-total . . .	15	109	72,2	35	23,2	6	4,0	1	0,7	151	100,0	166
Avirulentos . . .	Sacarose — . .	0	8	47,1	3	17,6	3	17,6	3	17,6	17	100,0	17
Total		15	117	69,6	38	22,6	9	5,4	4	2,4	168	100,0	183

* — Tôdas as cêpas fermentaram a dextrina; a glicerina foi atacada por tôdas as experimentadas, 66 virulentas e 9 avirulentas.

de carbono, distinguiu 5 tipos de *C. diphtheriae*: entre outras propriedades, os tipos I fermentavam dextrina, mas não glicerina; o tipo II não atacava nem um e nem outro; os tipos III, IV e V fermentavam os dois. Encontrou cêpas atípicas com variações individuais.

Barratt², em 1924, verificou a ação de 102 cêpas virulentas e 31 avirulentas de *C. diphtheriae* e de 150 difteróides sôbre vários hidratos de carbono. Apresenta o bacilo diftérico como fermentando a dextrina. Encontrou uma única cêpa de difteróide que atacou êste hidrato de carbono. Teve, porém, oportunidade de verificar a variabilidade dos lotes de dextrina e não a julgou substância apropriada a uso em provas de fermentação.

Jensen e Falk¹¹, em 1928, verificando a ação de 45 cêpas virulentas e 5 avirulentas sôbre 36 substâncias fermentáveis, notaram que tôdas atacaram a dextrina e a glicerina.

Tanner Hewlett²⁰, em 1930, apresenta o *C. diphtheriae* como fermentando constantemente a dextrina e glicerina.

Anderson, Happold, McLeod e Thonson¹, em 1931, ao descreverem os tipos de *C. diphtheriae*, apresentaram o tipo *gravis* como fermentando invariavelmente a dextrina e o tipo *mitis* como dando resultados inconstantes.

Pestana e Ferreira¹⁷, em 1943, relatam que tôdas as 1.452 cêpas de bacilo diftérico estudadas, identificadas por sua morfologia, fermentaram a dextrina e glicerina, o que não foi feito por nenhum pseudodiftérico.

Jordan e Burrows¹², em 1945, são de opinião que algumas cêpas de *C. diphtheriae* fermentam os compostos de carbono em questão.

Simmons e Gentskow¹⁸, em 1946, apresentam o bacilo diftérico como fermentando, geralmente, a dextrina e a glicerina.

Stitt e Clough¹⁹, em 1948, são da mesma opinião.

Murray e Breed¹⁶, na edição de 1948 do "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology", dão êsses compostos como atacados por algumas cêpas do bacilo diftérico.

Bryan e Bryan⁴, em 1950, apresentam igual opinião afirmativa.

Wilson e Miles²¹, na edição de 1952 de "Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunology", apresentam apenas o tipo *gravis* como fermentando constantemente a dextrina; referem os tipos *mitis* e *intermedius* como dando resultados irregulares com êsse hidrato de carbono. Quanto ao *C. xerose*, afirmam que não ataca a dextrina. Nada referem quanto à glicerina.

Mueller¹⁵, em 1952, diz que os bacilos diftéricos do tipo *gravis* atacam a dextrina e que os dos outros tipos não têm ação sôbre ela.

Mackie e Mc Cartney¹⁴, em 1953, dão o *C. diphtheriae* como dextrina-positivo.

Vê-se que a opinião dos vários autores citados, sobre a capacidade do *C. diphtheriae* de fermentar a dextrina e glicerina, está longe de ser concordante e que alguns procuram estabelecer diferença de ação sobre a dextrina segundo o tipo de bacilo. Como ficou implícito, não foi encontrada nenhuma diferença desta ordem, pois tôdas as cêpas isoladas, atacaram êsse hidrato de carbono.

Outro fato de interêsse, revelado nesta investigação, refere-se à questão da capacidade de fermentar a sacarose e o tipo do bacilo diftérico. Smith e cols²³, na 10.^a edição, de 1952, do "Zinsser's Textbook of Bacteriology", referindo-se às propriedades bioquímicas do *C. diphtheriae*, afirmam: "...A lactose, sacarose e manita não são fermentadas... As reações de fermentação, no entanto, não são sempre constantes. Algumas cêpas toxígenas *intermedius* fermentaram a sacarose..." Foi visto, na série de cêpas virulentas apresentadas na tabela III, que 17% das pertencentes ao tipo *mitis*, 14% daquelas semelhantes a *mitis*, 5 das 6 semelhantes a *gravis* e a única amostra *gravis* virulenta isolada, atacaram a sacarose.

Os dados obtidos nesta investigação evidenciaram, mais uma vez, a variação dos resultados de provas de fermentação em meios básicos diferentes. No meio líquido, a fermentação da dextrina pelas cêpas virulentas foi muitas vezes duvidosa e a ação sobre a glicerina algumas vezes negativa. Com o meio sólido tal não se deu; porém, o número de casos positivos obtidos com cêpas que não poderiam ser classificadas como diftéricas foi maior. A prova mais nítida e a positividade constante das cêpas virulentas com a dextrina e glicerina, obtidas no meio à base de agar-infusão-sôro de cavalo, levariam, entretanto, à preferência dêste meio.

A diversidade dos meios básicos de fermentação empregados em vários estudos explicaria, sem dúvida, muito da controvérsia encontrada na literatura.

RESUMO

As propriedades fermentativas do bacilo diftérico são ainda, em grande parte, assunto controvertido. A razão de tal fato se deve à falta de uniformidade das técnicas empregadas pelos vários investigadores e à existência ou predominância de variedades diversas do microrganismo em locais diferentes. A alta incidência em São Paulo de cêpas de *C. diphtheriae* virulentas, fermentadoras de sacarose (até 35,7%), torna impossível a distinção entre *C. diphtheriae* e *C. xerose* através da fermentação dêsse açúcar. Isso levou o autor a verificar a ação de 193 cêpas virulentas e 129 cêpas de difteróides e diftéricos avirulentos sobre a dextrina, e de 66 cêpas virulentas e 71 avirulentas, difteróides e diftéricos, sobre a glicerina, visando a possibilidade do emprêgo dêsses compostos na identificação do bacilo diftérico. A verificação das fermentações foi efetuada em dois meios de cultura, um sólido e outro líquido. Os contrôles apropriados foram empregados. O meio sólido forneceu melhores resultados, os quais se acham apresentados nas tabelas II a V, onde sua distribuição foi

feita pela virulência e aspecto morfológico da cêpa. A virulência foi comprovada pela técnica intradérmica em coelho, de Frazer, a qual inclui a averiguação da especificidade das reações positivas.

Os dados apresentados revelam claramente, mais uma vez, que só o aspecto morfológico não é caráter suficiente de identificação do bacilo diftérico. As cêpas de diftéricos virulentos estudadas geralmente apresentaram morfologia bastante característica e sempre fermentaram, no meio sólido, a dextrina e a glicerina, além da glicose. A glicerina, às vêzes, foi fermentada somente no quarto dia de incubação. A ação sobre a sacarose, dada sua importância particular, foi objeto de comunicação especial.

Os resultados obtidos com os diftéricos avirulentos e os difteróides não permitiram conclusões absolutas. Observaram-se, no entanto, os seguintes aspectos. Dentre as 185 cêpas avirulentas, 129 eram morfológicamente “não semelhantes” a bacilo diftérico (tabela I); entre as 62 cêpas avirulentas que fermentaram glicose e dextrina, 26 (18 GoDS e 8 GoD — tabela IV) não apresentaram morfologia semelhante à do *C. diphtheriae*; ao se considerar também a fermentação da glicerina (tabela V), somente 2 das 18 cêpas que atacaram todos os três compostos (colunas GoDSGi e GoDGi), se classificaram como “não semelhantes”. Considerando-se as cêpas avirulentas que fermentaram a sacarose, observou-se que pequena proporção das que também atacaram glicose, dextrina e glicerina apresentaram morfologia “não semelhante” enquanto este caráter predominou entre as cêpas que fermentaram somente a sacarose, glicose e dextrina (tabela V). Não foram encontradas cêpas incapazes de fermentar a glicerina entre as cêpas que atacaram a glicose e dextrina, mas que não fermentaram a sacarose. Parece, portanto, haver razões para atribuir valor diagnóstico à fermentação da glicerina, além daquela da dextrina e glicose. Por outro lado, 6 das 20 cêpas que deixaram de atacar uma ou duas dessas três substâncias (tabela V) e 13 das 84 (tabela IV) que não fermentaram nenhuma das substâncias experimentadas eram morfológicamente semelhantes ao bacilo diftérico, ainda que não tipicamente (tabela III). Poder-se-ia dizer, assim, que há indicações de que a corinebactéria que, no meio sólido empregado, deixar de atacar pelo menos uma das três substâncias — glicose, dextrina e glicerina — tem pequena probabilidade de ser *C. diphtheriae*, mesmo quando sua morfologia se assemelhar à do bacilo diftérico.

A tabela VI apresenta a distribuição de 151 cêpas virulentas e 17 avirulentas de *C. diphtheriae* por tipos e, relativamente às virulentas, segundo a ação sobre a sacarose. Classificaram-se como do tipo *gravis* apenas 2,4%; como do tipo semelhante a *gravis*, 5,4%; semelhante a *mitis*, 22,6% e do tipo *mitis*, 69,6%; entre as cêpas virulentas, encontraram-se, respectivamente, as percentagens 0,7, 4,0 23,2 e 72,2; entre as avirulentas, 17,6, 17,6, 17,6 e 47,1. Revelou-se nitidamente tendência a maior proporção de tipo *mitis* entre as cêpas virulentas; tal tendência mostra-se mais intensa tomando-se das virulentas, somente as não fermentadoras da sacarose.

Das 4 cêpas *gravis*, 3 são avirulentas. A única cêpa *gravis* virulenta fermentou a sacarose. Entre as cêpas virulentas, verifica-se que a sacarose foi fermentada por 19 (17,4%) das 109 pertencentes ao tipo *mitis*, por 5 (14%) das 35 semelhantes a *mitis* e por 5 das 6 semelhantes a *gravis*.

SUMMARY

Fermentative properties of diphtheriae bacilli are still a controversial subject. This is due to lack of uniformity in the technique employed by several investigators and to the existence or predominance of different varieties of the microorganisms in different areas. The high incidence in São Paulo of saccharose fermenting, virulent strains of *C. diphtheriae* (up to 35.7 per cent) makes it impossible to differentiate *C. diphtheriae* from *C. xerose* by the fermentation of that sugar. This fact led the author to investigate the possibility of using dextrin and glycerol in the identification of the organisms. One hundred and ninety three virulent strains of diphtheria bacilli and 129 strains of diphtheroids and avirulent *C. diphtheriae* were examined for their action on dextrin; 66 virulent strains and 71 diphtheroids and avirulent diphtheria bacilli were investigated in relation to the fermentation of glycerol. Each strain was tested in two culture media, one solid, the other liquid, using appropriate controls. The solid medium furnished better results which are presented in tables II to V, where their distribution is made according to the virulence and morphological aspects of the strain. Virulence was verified through Frazer's intracutaneous technique in rabbits, which includes a control of the specificity of the positive tests.

The data presented reveal clearly, once more, that the morphological aspect by itself is not a sufficient character for the identification of diphtheria bacilli. The virulent strains studied generally presented a rather characteristic morphology and, in the solid medium, always fermented glucose, dextrin and glycerol. Occasionally, glycerol was fermented only on the fourth day of incubation. A considerable percentage of these strains also fermented saccharose. This finding, on account of its particular interest, has been the object of a special communication.

The results obtained with avirulent *C. diphtheriae* and diphtheroid strains do not permit definite conclusions, but the following aspects may be pointed out. The majority of these strains, 129 out of 185, were morphologically "not similar" to diphtheria bacilli (table I). However, among strains that fermented both glucose and dextrin, only 26 out of 62 did not show a characteristic morphology (18 GoDS and 8 GoD: table IV). When fermentation of glycerol also occurred besides that of the two forementioned carbohydrates, the proportion of strains morphologically not resembling *C. diphtheriae* was even smaller, 2 out of 18 (table V, columns GoDSGi and GoDGi). Considering the avirulent strains of corynebacteria that fermented saccharose, it was observed that a small proportion of those fermenting also glucose, dextrin and

glycerol showed a "not similar" morphology, whereas the latter characteristic predominated among strains fermenting only saccharose, glucose, and dextrin (table V). No strain unable to ferment glycerol was found among those strains that attacked glucose and dextrin but which did not ferment saccharose. It seems, therefore, that there are reasons to ascribe diagnostic value to the fermentation of glycerol, besides that of dextrin and glucose. Furthermore, 6 out of 20 strains not fermenting one or two of these three substances (table V) as well as 13 out of 84 strains not fermenting any of the substances tried (table IV) were morphologically similar to *C. diphtheriae*, though none in a typical way (table III). Accordingly, there are indications that corynebacteria which in the solid medium employed, fail to ferment at least one of the three substances -- glucose, dextrin and glycerol are very unlikely to be *C. diphtheriae*, even when morphologically similar to diphtheria bacilli.

Table VI presents the distribution of 151 virulent and 17 avirulent strains of *C. diphtheriae* according to type, and for the virulent strains, according to action on saccharose. Only 2.4 per cent were classified as belonging to *gravis* type; 54 per cent as *gravis*-like; 22.6 per cent as *mitis*-like and 69.6 per cent, as *mitis*. Among the virulent strains, the percentages 0.7, 4.0, 23.2 and 72.2 were found as belonging, respectively, to *gravis*, *gravis*-like, *mitis*-like and *mitis* types; among the avirulent ones, 17.6, 17.6, 17.6 and 47.1. Tendency to a greater proportion of *mitis* type among the virulent strains was clearly revealed; such a tendency seems to increase when, among the virulent strains, only the non-saccharose-fermenting strains are considered.

Three of the 4 *gravis* strains were avirulent. The only virulent *gravis* strain attacked saccharose. Among the virulent strains, it may be seen that saccharose was fermented by 19 (17.4 per cent) out of the 109 belonging to *mitis* type, by 5 (14 per cent) out of the 35 *mitis*-like and by 5 out of the 6 *gravis*-like strains.

AGRADECIMENTOS

A classificação em tipos das cêpas de *Corynebacterium diphtheriae*, apresentada nesta investigação (tabela VI), foi realizada nos laboratórios do Dr. Martin Frobisher Jr. (Bacteriology Branch, Communicable Disease Center, Atlanta, Ga., U.S.A.), a quem enviamos tôdas as cêpas referidas. Verificação e confirmação total da virulência, ou avirulência, e da propriedade de fermentar ou não a sacarose, apresentadas pelas mesmas cêpas, foi obtida em seus laboratórios. Ao Dr. Martin Frobisher Jr. e a sua colaboradora, Dra. Elizabeth I. Parsons, nosso profundo reconhecimento.

ACKNOWLEDGEMENTS

Most strains of *Corynebacterium diphtheriae* studied in this investigation were sent to Dr. M. Frobisher Jr. (Bacteriology Branch, Communicable Disease Center Atlanta, Ga., U.S.A.). The classification according to type, as well

as verification and confirmation of the virulence, or avirulence, and of the property of fermenting or not fermenting saccharose, were obtained in his laboratories. To Dr. Martin Frobisher Jr. and to his collaborator, Dr. Elizabeth I. Parsons, we are greatly obliged.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Anderson, J. S.; Happold, F. D.; McLeods, J. W. & Thomson, J. G.: On the existence of two forms of diphtheria bacillus — *B diphtheriae gravis* and *B diphtheriae mitis* — and a new medium for their differentiation and for the bacteriological diagnosis of diphtheria. *J. Path. Bact.* **34**:667-681, 1931.
2. Barratt, M. M.: A study of *C. diphtheriae* and other members of the genus of *Corynebacterium* with special reference to fermentative activity. *J. Hyg. (London)* **23**:241-247, 1924.
3. Besson, A.: *Technique microbiologique et sérothérapique*. 8e ed. Paris, J. B. Baillière et Fils, 1930, 2v.
4. Bryan, A. H. & Bryan, C. G.: *Principles and practice of bacteriology*. 3rd ed. New York, Barnes & Noble, Inc., 1950.
5. Christovão, D. de A.: Estudo sobre o *Corynebacterium diphtheriae*. 1. Fermentação da sacarose por bacilos diftéricos virulentos isolados em São Paulo. *Arq. Fac. Hig. Saúde Públ.* **11**:95-112, 1957.
6. Durand, P.: Action des bacilles diphthériques sur les hydrates de carbone. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **84**:982-983, 1921.
7. Frobisher, M. (Jr.): Types of *Corynebacterium diphtheriae* in Baltimore, Maryland. *Amer., J. Hyg.* **28**:13-35, 1938.
8. —: *The Diphtheria Bacillus* (in *American Public Health Association: Diagnostic procedures and reagents*. 3rd ed. New York, 1950. p. 156-190).
9. Graham-Smith, G. S.: *The diphtheria bacillus*, (in Nuttal, G. H. F. & Graham-Smith, G. S.: *The bacteriology of diphtheria*. Cambridge, University Press, 1913. p. 122-448).
10. Hine, T. G. M.: Biochemical reactions of diphtheria-like organisms. *J. Path. Bact.*, **18**:75-80, 1913-14.
11. Jensen, L. B. & Falk, I. S., cit. in 21.
12. Jordan, E. O. Burrows, W.: *Textbook of bacteriology*. 14th. ed Philadelphia, W. B. Saunders Co., 1945.
13. Knapp, A.: The differentiation of *Bacillus diphtheriae*, *Bacillus xerosis* and *Bacillus pseudo diphtheriae* by fermentation tests in the serum-water media of Hiss. *J. med. Res.*, **12**:475-481, 1904.
14. Mackie, T. J. & McCartney, J. E.: *Handbook of practical bacteriology*. 9th ed. Edinburgh, E. S. Livingstone Ltd., 1953.
15. Mueller, J. H.: *The diphtheria bacilli and the diphtheroids*. (in Dubos, R. J. *Bacterial and mycotic infections of man*. 2nd ed. Philadelphia, J. B. Lippincott Co., 1952. p. 222-243).
16. Murray, E. G. D. & Breed, R. S.: Family VIII. *Corynebacteriaceae* Lehmann and Neumann. (in *Bergey's Manual of determinative bacteriology*. 6th ed. Baltimore, The Williams & Wilkins Co., 1948. p. 381-411).

17. Pestana, B. R. & Ferreira, J. F. Q.: Considerações sobre algumas propriedades bioquímicas do bacilo da difteria. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 3:32-43, 1943.
18. Simmons, J. S. & Gentzkow, D. J.: *Laboratory methods of the United States Army*. 5th ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1946.
19. Stitt, E. R.; Clough, P. W. & Branham, S. E.: *Practical bacteriology, hematology and parasitology*. 10th ed. Philadelphia, Blakinston Co., 1948.
20. Tanner-Hewlett, R.: *Corynebacterium diphtheriae* and diphtheroid organisms. *Ann. Medical Research Council: A system of bacteriology in relation to medicine*. London, 1930. v. 5, p. 67-150).
21. Topley and Wilson's principles of bacteriology and immunity. 4th ed., rev. by G. S. Wilson and A. A. Miles. London, Edward Arnold & Co, 1955. 2v.
22. Zinsser, H.: A study of the diphtheria group of organisms; With special reference to fermentation reaction. *J. med. Res.*, 17:277-289, 1908.
23. —: *Textbook of bacteriology*. [10th ed. rev. by] David T. Smith [et al.] New York, Appleton Century Crofts, Inc. [c1952].

COMPARAÇÃO ENTRE O CALDO TRIPTOSE-LAURIL E O CALDO LACTOSADO, NA DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE BACTÉRIAS COLIFORMES NAS ÁGUAS DAS PRAIAS DOS MUNICÍPIOS DE SANTOS E SÃO VICENTE ^o

DACIO DE ALMEIDA CHRISTOVÃO *

A investigação bacteriológica das águas das praias de Santos e São Vicente, realizada por Christovão, Azevedo Netto e Jezler¹, em 1954, confirmou o elevado grau de contaminação dos primeiros quilômetros da Praia Grande — como era de esperar, dado o lançamento, em local próximo à praia, dos esgotos *in natura* de ambas as cidades — e veio revelar, pela primeira vez, a presença de bactérias coliformes em densidades acima dos padrões de balneabilidade comumente adotados, em vários trechos das outras praias do município de São Vicente e, também, da praia de Santos.

Posteriormente, entre outras medidas tendentes a corrigir a situação ou a melhor caracterizá-la, foi estabelecido o exame bacteriológico periódico das águas em questão, pela determinação do índice coliforme.

O decreto estadual n. 24.806, de 1955⁴, regulamentando a lei estadual n. 2.182 — que estabeleceu normas tendentes a evitar a contaminação e poluição das águas litorâneas ou interiores, correntes ou dormentes — adotou, para a amostragem e análise necessárias ao controle das águas, os métodos da Associação Americana de Saúde Pública.

A pesquisa das bactérias do grupo coliforme nas águas se inicia pela “prova de presunção”, a qual, de acordo com a última edição dos métodos padrões norte-americanos, pode ser realizada tanto em caldo lactosado simples, como em caldo triptose-lauril.

O emprêgo do caldo triptose-lauril, de Mallmann e Darby¹⁶ — combinação do caldo triptose dos mesmos autôres³ e do meio de Cowls² — tem sido apresentado como grandemente vantajoso, por ocasionar a evidenciação de maior número de provas confirmadas e pela economia de tempo e de material que proporciona aos laboratórios de controle de potabilidade e balneabilidade de águas, graças à redução do número de provas presuntivas falsas. Este efeito deve-se à presença do agente umectante, sulfato de lauril, o qual, provocando

Recebido para publicação em 25-7-1957.

^o Trabalho realizado na Cadeira de Microbiologia e Imunologia Aplicadas (Prof. Lucas de Assumpção) da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Apresentado à Sessão de 14-9-56, do Departamento de Higiene e Medicina Tropical da Associação Paulista de Medicina.

* Assistente da Cadeira.

o abaixamento da tensão superficial do meio, dificulta, ou mesmo impede, a multiplicação de bactérias esporuladas — as responsáveis mais freqüentes pela ocorrência de provas falsas — principalmente aquelas do tipo aeróbio, como o *Bacillus polymixa* e outros.

Os pesquisadores norte-americanos Mallmann e Darby, na comunicação original¹⁶, chegaram mesmo a afirmar: “Nossa observação tem sido que sempre se obtém confirmação quando se produz gás no caldo triptose-lauril”

McCrary¹⁸, Diretor dos Laboratórios do Ministério de Saúde de Quebec, Canadá, ao relatar o estudo conjunto realizado por 17 laboratórios estaduais, provinciais, municipais e universitários dos Estados Unidos e Canadá, sobre o valor do caldo triptose-lauril, achou, entre outras conclusões, que seu emprego, relativamente ao do caldo lactosado, resultara na redução de cerca de 13% no número de porções positivas na prova de presunção e que, apesar disso, a percentagem de porções positivas na prova completa era maior; que, entretanto, se verificara que a produção de gás nesse meio requeria também confirmação.

Seria admissível que a freqüência relativa das bactérias esporuladas originárias de esgotos fôsse maior nas águas marítimas poluídas do que nas águas doces em igual condição, devido à pronunciada ação bactericida da água do mar e à resistência maior dos esporos. O uso do caldo triptose-lauril teria, portanto, probabilidade de revelar maior vantagem na determinação do número de coliformes nas águas do mar.

Tendo encontrado, entre as fontes de literatura mais usuais, uma única referência¹⁸ — relativa a trabalho realizado com apenas 10 amostras d'água, com 40 porções inoculadas — sobre a eficiência desse meio no exame de água do mar, o autor julgou de interesse verificar seu comportamento nos casos particulares das águas das praias dos municípios de Santos e São Vicente.

TÉCNICAS

Amostras: locais de amostragem, coleta e transporte — Como já descrito minuciosamente em trabalho anterior¹, foram estabelecidos seis locais de tomada de amostras — S1 a S6 — na praia de Santos, sete — V1 a V7 — nas praias da cidade de São Vicente e dez — G1 a G10 — na Praia Grande. Em cada local foram coletadas duas amostras por vez, uma — R — no ponto em que a profundidade das águas era de aproximadamente 0,75 m, outra — F — em parte mais profunda, cerca de 1,50 m.

Detalhes sobre o equipamento para a coleta e transporte das amostras d'água, assim como sobre a maneira como foram realizadas essas operações já foram descritos¹. As amostras foram sempre colhidas nas primeiras horas da manhã, entre 7,00 e 9,00 horas, de um grupo de locais de cada vez — Santos, São Vicente ou Praia Grande — e a coleta foi realizada três vezes por semana.

Medida da eficiência do caldo triptose-lauril — A eficiência do caldo triptose-lauril na prova de presunção foi medida pela comparação entre os resultados obtidos pela inoculação simultânea de amostras de águas das praias referidas, nesse meio e no caldo lactosado padrão ²⁰ De cada amostra examinaram-se duas sub-amostras A e B, empregando-se duas séries iguais de quatro “diluições” decimais, e de cada “diluição” inocularam-se três tubos de ambos os meios de cultura. Ao todo foram inoculados, portanto, com cada uma das amostras d’água, na prova de presunção, 24 tubos de caldo lactosado e 24 tubos de caldo triptose-lauril. As “diluições” ou volumes empregados para a água dos três primeiros locais de amostragem da Praia Grande, onde era de se esperar a maior frequência de coliformes, foram de 1,0 — 0,1 — 0,01 e 0,001 ml. Para tôdas as outras amostras usou-se a combinação de 10 — 1 — 0,1 e 0,01 ml. A partir de tôdas as porções positivas de tôdas as “diluições”, isto é, de todos os tubos que revelaram a presença de gás às 24 e às 48 horas de incubação, foram inoculados tubos de caldo bile-lactose-verde-brilhante, para a confirmação dos resultados. A prova de confirmação foi lida até as 48 horas de incubação.

O método utilizado, executado todo êle de acôrdo com os padrões da Associação Americana de Saúde Pública ²⁰, permitia medir-se a eficiência relativa dos meios, tanto pelo número de porções ou tubos presuntivamente positivos e depois confirmados, como através da determinação dos “números mais prováveis” — N.M.P. — de coliformes revelados em cada exame; os N.M.P. foram obtidos pelas tabelas de Hoskins ¹⁵. O primeiro processo tem sido quase o único utilizado na comparação e seleção dos meios de cultura para exame d’água e, através dêle, foram estabelecidos os atuais métodos padrões. Como será discutido posteriormente, nem sempre seria aceitável. A medida dos N.M.P. oferece, muitas vêzes, vantagens apreciáveis e chega mesmo a ser a maneira apropriada de medir os resultados.

A realização dos exames em duplicata, com ambos os meios, pelo emprêgo das duas sub-amostras A e B, permitiria análise estatística destinada a medir o êrro de cada método e também, dada a variabilidade dos N.M.P., oferece a vantagem do seu valor médio ter maior probabilidade de se aproximar do verdadeiro valor do que ocorreria fazendo-se um único exame.

Número de exames — Contando-se as sub-amostras A e B, foram examinadas, ao todo, 208 amostras — 72 da praia de Santos, 56 das praias de São Vicente e 80 da Praia Grande. Inoculando-se 3 porções de cada uma de 4 “diluições” (ou volumes) de cada sub-amostra em caldo lactosado e em caldo triptose-lauril, segue-se que se examinaram 2.496 porções em cada um desses meios presuntivos. Tendo sido prejudicados os exames das sub-amostras A e B de uma das amostras V6-F — e de uma das V7-F, assim como da sub-amostra B de G6-F, o número de porções a ser considerado neste trabalho passou a ser de 2.436.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O quadro I apresenta, separadamente para as praias de Santos, São Vicente ou Praia Grande, o número de porções positivas nas provas de presunção e confirmação, obtidas a partir da inoculação em caldo lactosado ou caldo triptose-lauril. A distribuição dos resultados é feita de acôrdo com o volume inoculado e tempo de incubação da prova de presunção. No quadro II é apresentada distribuição semelhante, tomando-se, porém, os resultados de tôdas as praias conjuntamente.

Vê-se no segundo quadro que, no total das amostras examinadas, o uso do caldo triptose-lauril resultou na obtenção de 1.294 e 1.463 porções positivas na prova de presunção, lida, respectivamente, às 24 e às 48 h de incubação, enquanto o caldo lactosado, nas mesmas condições, forneceu 1.400 e 1.539 porções positivas. Assim, com o emprêgo do caldo triptose-lauril houve, respectivamente, redução de 7,6 e 4,9% no número de porções presuntivamente positivas.

Entretanto, ainda pelos dados do quadro II, pode-se notar que o uso do caldo triptose-lauril resultou também em diminuição do número de porções confirmadas. Houve, no total, 1.247 e 1.301 porções confirmadas, quando se partiu das provas presuntivas positivas obtidas com o caldo lactosado, respectivamente, às 24 e às 48 h de incubação. Partindo-se, nas mesmas condições, do caldo triptose-lauril, obteve 1.202 e 1.252 porções confirmadas, ou seja, menos 3,6 e 3,8%, respectivamente. Comparadas com as quedas percentuais ocorridas nas provas de presunção, estas menores quedas percentuais observadas nas provas de confirmação mostram ter havido maior proporção de confirmação nos exames realizados pela inoculação inicial em caldo triptose-lauril do que naqueles iniciados em caldo lactosado. Evidentemente, tal fato se demonstraria diretamente, estabelecendo-se, para cada meio presuntivo, as relações percentuais entre os números de porções confirmadas e os das porções positivas na prova de presunção. Pelos dados do quadro II, pode-se calcular tais percentagens de confirmação como sendo de 89,1 e 84,5 para as porções presuntivamente positivas em caldo lactosado, respectivamente às 24 e às 48 h de incubação, e de 92,9 e 85,6 para as do caldo triptose-lauril, nas mesmas condições. Porém, como se vê, estas diferenças, assim como aquelas observadas acima, foram muito pequenas.

Fatos análogos ocorrem, em geral, se forem considerados do mesmo modo os dados respectivo das praias de Santos, São Vicente e Praia Grande, separadamente (Quadro 1). Apenas, para esta última praia, acentuam-se as diferenças entre os dois meios presuntivos.

O quadro III, embora não organizado com essa finalidade, permite verificação mais fácil desses fatos, tanto para o total das observações, como para os resultados de cada grupo de locais de amostragem. Esse quadro apresenta o número de porções positivas e os índices correspondentes, obtidos nas provas de presunção e confirmação, segundo o tempo de incubação da prova de presunção, meio presuntivo utilizado e proveniência das amostras. Os números

QUADRO I — Comparação entre o caldo triptose-lauril e o caldo lactosado na pesquisa de Coliformes em amostras d'água das Praias de Santos, São Vicente e Praia Grande. Numeros de porções positivas nas provas de presunção e de confirmação, segundo o volume inoculado e tempo de incubação da prova de presunção

PRAIA	P R O V A	Volume inoculado (ml)	TEMPO DE INCUBAÇÃO DA PROVA DE PRESUNÇÃO					
			Até 24 horas		De 24 a 48 horas		Até 48 horas	
			caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril
Santos*	Presunção	10	216	216	0	0	216	216
		1	211	211	5	5	216	216
		0,1	127	110	27	28	154	138
		0,01	16	19	14	6	30	25
			143	129	41	34	184	163
	Total	570	556	46	39	616	595	
Confirmação	10	215	216	0	0	215	216	
	1	203	200	5	5	208	205	
	0,1	94	88	7	7	101	95	
	0,01	10	11	1	2	11	13	
		104	99	8	9	112	108	
Total	522	515	13	14	535	529		
São Vicente**	Presunção	10	156	156	0	0	156	156
		1	147	145	5	7	152	152
		0,1	68	46	35	31	103	77
		0,01	8	3	6	2	14	5
			76	40	41	33	117	82
	Total	379	350	46	40	425	390	
Confirmação	10	156	156	0	0	156	156	
	1	138	132	8	5	146	137	
	0,1	40	37	12	8	52	45	
	0,01	3	4	0	0	3	4	
		43	41	12	8	55	49	
Total	337	329	20	13	357	342		

(continua)

QUADRO I (cont.)

PRAIA	P R O V A	Volume inoculado (ml)	TEMPO DE INCUBAÇÃO DA PROVA DE PRESUNÇÃO					
			Até 24 horas		De 24 a 48 horas		Até 48 horas	
			caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril
Praia Grande***	Presunção	10	154	130	11	30	165	160
		1	147	128	17	48	164	176
		0,1	77	74	16	10	93	84
		0,01	50}73	39}56	1}3	0}2	51}76	39}58
		0,001	23}73	17}56	2}3	2}2	25}76	19}58
		Total	451	388	47	90	498	478
	Confirmação	10	112	103	11	12	123	115
		1	136	129	5	8	141	137
		0,1	71	70	2	1	73	71
		0,01	49}69	39}56	1}3	0}2	50}72	39}59
0,001		20}69	17}56	2}3	2}2	22}72	19}59	
	Total	388	358	21	23	409	381	

* — Em cada meio presuntivo foram inoculadas 864 porções — 216 de cada um dos volumes indicados.

** — Em cada meio presuntivo foram inoculadas 624 porções — 156 de cada um dos volumes indicados;

*** — Em cada meio presuntivo foram inoculadas 948 porções — 165 de 10 ml, 237 de cada um dos volumes de 1,0, 0,1 e 0,01 ml e 72 de 0,001ml.

QUADRO II — Comparação entre o caldo triptose-lauril e o caldo lactosado na pesquisa de coliformes em amostras d'água das praias de Santos, São Vicente e Praia Grande, tomadas em conjunto. Número de porções positivas* nas provas de presunção e de confirmação, segundo o volume inoculado e tempo de incubação da prova de presunção

P R O V A	Volume inoculado (ml)	TEMPO DE INCUBAÇÃO DA PROVA DE PRESUNÇÃO					
		Até 24 horas		De 24 a 48 horas		Até 48 horas	
		caldo lactosado	caldo triptose lauril	caldo lactosado	caldo triptose lauril	caldo lactosado	caldo triptose lauril
Presunção	10	526	502	11	30	537	532
	1	505	484	27	60	532	544
	0,1	272	230	78	69	350	299
	0,01	74	61	21	8	95	69
	0,001	23	17	2	2	25	19
	Total	1 400	1 294	139	169	1 539	1 463
Confirmação	10	483	475	11	12	494	487
	1	477	461	18	18	495	479
	0,1	205	195	21	16	226	211
	0,01	62	54	2	2	64	56
	0,001	20	17	2	2	22	19
	Total	1 247	1 202	54	50	1 301	1 252

* Em cada meio presuntivo foram inoculadas 2 436 porções — 537 de 10 ml, 609 de cada um dos volumes de 1,0, 0,1 e 0,01 ml e 72 de 0,001 ml.

QUADRO III — Comparação entre o caldo triptose lauril e o caldo lactosado na pesquisa de coliformes em amostras d'água das praias de Santos, São Vicente e Praia Grande. Numero de porções positivas e índices correspondentes * nas provas de presunção e confirmação tomando-se todos os volumes inoculados ou somente os dois menores, segundo o tempo de incubação da prova de presunção

Águas das Praias	Volumes inoculados considerados	PROVA DE PRESUNÇÃO POSITIVA				PROVA DE CONFIRMAÇÃO POSITIVA			
		Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)	
		caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado
Santos	todos os volumes	556 104	570 107	595 111	616 115	515 96	522 98	529 99	535 100
	somente os dois volumes menores	129 115	143 123	163 146	184 164	99 88	104 93	108 96	112 100
São Vicente ..	todos os volumes	350 98	379 106	390 109	425 119	329 92	337 94	342 96	357 100
	somente os dois volumes menores	49 89	76 138	82 149	117 213	41 75	43 78	49 89	55 100
Praia Grande ..	todos os volumes	388 95	451 110	478 117	498 122	358 88	388 95	381 93	409 100
	somente os dois volumes menores	56 78	73 101	58 81	76 106	56 78	69 96	58 81	72 100
Total	todos os volumes	1 294 99	1 400 108	1 463 112	1 539 118	1 202 92	1 247 96	1 252 96	1 301 100
	somente os dois volumes menores	234 98	292 126	303 127	377 158	196 82	216 90	215 90	239 100

* — Os números índices acham-se em negrito. O valor 100 foi atribuído ao número de porções confirmadas a partir das porções positivas em caldo lactosado, com incubação até 48 horas.

índices são os que se obtém atribuindo-se o valor 100 ao número de porções confirmadas a partir das porções positivas ocorridas em caldo lactosado com incubação até 48 h. Comparando-se os índices obtidos, pode-se verificar mais facilmente os fatos acima descritos.

Colocada a questão nesses termos, pareceria justificável concluir-se pelo emprêgo facultativo de qualquer dos meios presuntivos estudados. É, com efeito o que revelariam os índices apresentados no quadro III. Considerando-se o número de porções confirmadas a partir de todos os volumes inoculados em caldo triptose-lauril, encontram-se os valores de 99, 96 e 93 nos casos das águas de Santos, São Vicente e Praia Grande, respectivamente. Pelo menos nos dois primeiros casos, parece indiferente o emprêgo de qualquer dos dois meios, embora com uma pequena restrição — o caldo triptose-lauril, tido como capaz de fornecer maior número de porções confirmadas, apresentou, realmente, resultados inferiores na série de observações relatadas. Dada a redução, já mencionada, de 7,6 ou 4,9%, conforme o caso considerado, no número de porções presuntivamente positivas obtidas em caldo triptose-lauril, haveria mesmo razão para a preferência dêste meio. Ainda mais, por esta maneira de analisar os resultados, parecia aconselhável a realização do exame das águas em questão simplesmente pela prova de presunção em caldo triptose-lauril, com incubação de 24 hrs. Pode ser visto facilmente pelos números índices (quadro III) que esta prova forneceu resultados muito próximos daqueles obtidos através da confirmação das porções positivas em caldo lactosado com incubação até 48 h, o que exige o total de 96 h, dois meios de cultura diferentes e duas inoculações. Ela é, mesmo, a que mais se aproximou desta prova de confirmação no caso das águas de São Vicente e da Praia Grande.

Entretanto êste modo de analisar os resultados, tomando-se para comparação os números totais de porções positivas nos vários grupos, é sujeito a causa de erro, a qual influencia os resultados, trazendo tendência bastante intensa à nivelção das diferenças, que poderia chegar a mascarar alguma diferença significativa entre grupos. Resulta essa influência da presença do número relativamente grande de porções dos maiores volumes inoculados, os quais, pela natureza do exame, são propositalmente selecionados para apresentarem, o mais freqüentemente possível, resultados totalmente positivos, tanto na prova de presunção, como na de confirmação. A presença de tal quantidade de porções positivas em ambos os tipos de provas, iniciadas com ambos os meios presuntivos, necessariamente tende a equalizar os resultados globais, medidos pelo número total de porções positivas. Isto pode ser visto nos três quadros apresentados, nos quais, com essa finalidade, foram incluídos nos diferentes grupos, os sub-totais de porções positivas dos menores volumes inoculados.

Observa-se no quadro II, por exemplo, que pelo emprêgo do caldo lactosado, resultou o total de 1.301 porções confirmadas e através do caldo triptose-lauril, 1.252. O uso do primeiro meio trouxe assim 3,9% mais de resultados confirmados. Tomando-se apenas os três volumes menores, observa-se o sub-

-total de 312 porções confirmadas dentre as inoculadas primariamente em caldo lactosado e de 286 entre aquelas inoculadas em caldo triptose-lauril. O primeiro meio, desta vez, mostra superioridade de 9,1% nos resultados confirmados.

Ainda pelos dados do mesmo quadro, pode-se ver que a prova de presunção em caldo lactosado com incubação de 24 h apresentou 1.400 porções positivas, 8,2% mais que a realizada em caldo triptose-lauril, que forneceu 1.294. Considerando-se somente os três volumes menores inoculados, encontram-se 369 porções positivas com o uso do caldo lactosado e 308, com o do caldo triptose-lauril. O primeiro meio, deste modo, revelou 19,8% mais de resultados positivos.

No quadro I, como exemplos mais flagrantes dêsse efeito, podem-se tomar os números de porções confirmadas (oriundas das positivas na prova de presunção com incubação até 48 hrs.) das amostras da Praia Grande e os números de porções presuntivamente positivas às 24 h de incubação, das amostras de São Vicente. No primeiro caso, poderá ser verificado que, enquanto, ao se tomar os resultados totais, se encontram 7,3% mais de resultados positivos através do emprêgo do caldo lactosado, levando-se em consideração apenas os dois menores volumes inoculados, essa superioridade seria de 24,1%. No caso de São Vicente, do mesmo modo, poderá ser visto que, considerando os totais, o caldo lactosado apresenta 8,3% mais de porções positivas, e, tomando-se os resultados obtidos com os dois volumes menores, a sua superioridade seria de 55,1%. Essas diferenças entre os meios de cultura, variáveis conforme se consideram todos ou apenas alguns volumes, podem ser vistas, facilmente pela comparação dos índices respectivos, apresentados no quadro III.

Ora, os resultados apresentados pelos volumes menores talvez indicassem a eficiência relativa dos meios de cultura muito melhor do que o total dos volumes examinados, pois neles é que se encontram, com freqüência muito maior, números mínimos de coliforme e mesmo, muitas vezes, a ocorrência de um único dêsse microrganismos. A diferença na eficiência dos dois meios estudados poderá ser, portanto, bem maior que a sugerida pela comparação dos números totais de porções positivas.

O método da análise através de comparação dos totais de porções positivas, embora tenha sido o único utilizado pela quase totalidade dos autores, até há poucos anos, em estudos da natureza da presente comunicação — como o de Hajna e Perry¹² e o, já referido, de McCrady¹⁸ — está sujeito a erro. Seria processo perfeitamente aceitável somente quando se trabalhasse com porções de igual volume da amostra, o que, em geral, somente é possível quando se examinam águas com densidade de coliformes conhecida, como é o caso das águas tratadas. O processo de se adotar apenas os resultados dos volumes menores, cria o problema da seleção dos volumes a serem considerados. A solução consiste em realizar a comparação pelas estimativas da densidade de bactérias que corresponde à combinação de resultados encontrada em cada

exame, as quais são fornecidas através do método do “número mais provável” — N.M.P. O N.M.P. pode ser definido como “o número de organismos por unidade de volume que, na pesquisa da densidade bacteriana pelo método da diluição, de acordo com a teoria estatística, teria probabilidade maior que qualquer outro número possível, de dar o resultado de exame observado”⁹.

O conceito do N.M.P. foi introduzido em 1915 por McCrady¹⁷. Seguiram-se, entre outros, os estudos de Greenwood e Yule¹¹; de Fisher⁸, em 1921; de Reed¹⁹, em 1925; de Halverson e Ziegler¹³ e de Hoskins¹⁴, em 1933. Eischenhart e Wilson⁵, em 1943, apresentaram revisão crítica dos estudos realizados até então. Vários dos autores mencionados, apresentaram, já no trabalho original ou em posteriores, tabelas para estimativa rápida do N.M.P., ou, mesmo, tabelas que forneciam os próprios valores, evitando assim os laboriosos cálculos matemáticos necessários e permitindo a difusão rápida da aplicação desse processo estatístico. Além disso, muitos métodos simplificados de cálculo do N.M.P. foram apresentados, entre eles os de Fisher e Yates⁹, e de Finney⁷. Últimamente, foram publicadas tabelas dos limites de confiança do N.M.P., como as de Swaroop²¹ e de Woodward²³. Swaroop, em recente número do Boletim da Organização Mundial de Saúde²², dedicado ao saneamento da água, apresentou discussão interessante de certos aspectos do N.M.P. e chamou a atenção, entre outros pontos, sobre seus limites de confiança e sobre a vantagem de ser introduzido o uso desses limites na rotina do controle da água.

A determinação do N.M.P., que leva na devida consideração o número de porções positivas ocorridas em cada nível de diluição, ou volume, é, como foi dito, bastante laboriosa e se recorre, por essa razão, a tabelas especiais para a obtenção direta das estimativas. Foram usadas nesta investigação as tabelas mais empregadas, que são as de Hoskins¹⁵. Trazem os N.M.P., por 100 ml de água, correspondentes a qualquer combinação de resultados obtida com a inoculação até de cinco porções de cada uma de três diluições decimais (ou volumes). A seleção das três “diluições” críticas — quando se trabalha com mais de três como é o caso desta investigação — em geral não oferece dificuldade, devendo-se apenas seguir certas regras, como as apresentadas nos métodos padrões americanos²⁰. Tem sido demonstrado que o uso de quatro ou mais diluições não altera significativamente o N.M.P.⁶.

Séries de N.M.P. podem ser tratadas estatisticamente. Fertig e Heller, em trabalho sobre a aplicação de técnicas estatísticas a processos de tratamento de esgotos⁶, ilustram de maneira simples e sucinta o emprego de algumas das técnicas estatísticas fundamentais na análise de séries de N.M.P.

Os quadros IV, V e VI apresentaram os N.M.P., por 100 ml, obtidos para as várias amostras d'água das praias de Santos, São Vicente e Praia Grande, respectivamente. Foram tabelados, para cada meio presuntivo, os N.M.P. das provas de presunção às 24 e às 48 h de incubação e os das provas de confirmação correspondentes. No quadro VII são apresentadas as médias geométricas de cada série. No caso da Praia Grande essas médias foram também

QUADRO IV — Comparação entre o caldo triptose-lauril e o caldo lactosado na pesquisa de coliformes em amostras d'água da praia de Santos. N.M.P., por 100 ml, obtidos nas provas de presunção e confirmação, segundo o tempo de incubação da prova de presunção, local de amostragem, sub-amostra e dia da colheita.

LOCAL DE AMOSTRAGEM (1.º dia)	sub-amostra	PROVA DE PRESUNÇÃO				PROVA DE CONFIRMAÇÃO				
		Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)		
		CL*	CTL*	CL	CTL	CL	CTL	CT	CTL	
S1	R	A	430	430	930	430	430	430	230	
	B	430	430	930	430	230	39	230	39	
	F	A	2400	230	2400	430	2400	93	2400	230
	B	1500	430	1500	430	930	430	930	430	
S2	R	A	1500	230	1500	2400	930	430	930	430
	B	2400	930	2400	2400	930	930	930	930	
	F	A	930	930	1500	2400	930	930	1500	930
	B	930	930	930	2400	930	930	930	930	
S3	R	A	930	430	2400	930	430	430	430	430
	B	1500	750	2100	4600	750	750	750	750	
	F	A	930	930	930	2400	930	430	930	430
	B	430	430	930	930	430	230	430	230	
S4	R	A	930	930	2400	2400	930	930	930	930
	B	750	430	1500	4600	430	430	430	430	
	F	A	230	930	430	4600	230	750	230	750
	B	230	390	230	750	230	230	230	230	
S5	R	A	430	430	430	930	230	430	230	430
	B	430	230	430	430	230	93	230	93	
	F	A	230	150	430	930	93	150	93	150
	B	430	230	430	430	430	93	430	93	
S6	R	A	2400	930	2400	2300	930	430	930	430
	B	930	430	2400	430	430	430	430	430	
	F	A	2400	4300	2400	4300	930	2300	930	2300
	B	2400	2300	2400	2300	2400	2300	2400	2300	

(continua)

QUADRO IV (continuação)

LOCAL DE amostragem (2.º dia)	sub-amos-tra	PROVA DE PRESUNÇÃO				PROVA DE CONFIRMAÇÃO				
		Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)		
		CL*	CTL*	CL	CTL	CL	CTL	CL	CL	
S1	R	A	750	390	750	390	230	230	230	230
		B	430	930	930	930	120	75	210	210
	F	A	150	430	750	430	150	430	150	430
		B	930	750	> 11000	750	210	150	210	430
S2	R	A	11000	2400	11000	4600	4600	4600	11000	4600
		B	4600	4600	4600	4600	2400	4600	2400	4600
	F	A	2400	930	2400	930	930	430	2400	930
		B	2400	930	2400	930	930	430	930	430
S3	R	A	430	2100	430	2100	230	430	230	430
		B	930	430	930	430	430	230	430	230
	F	A	930	230	930	230	150	230	930	230
		B	430	930	930	930	430	930	430	930
S4	R	A	2400	930	2400	930	930	930	930	930
		B	930	430	930	930	930	930	930	930
	F	A	230	930	430	930	230	230	230	230
		B	930	2400	2400	2400	430	930	430	930
S5	R	A	930	2400	1500	2400	930	930	930	930
		B	1500	4600	11000	4600	390	930	1500	930
	F	A	2400	2400	2400	2400	930	2400	930	2400
		B	2400	930	4600	2400	750	430	1500	430
S6	R	A	930	4600	930	4600	930	4600	930	4600
		B	4600	2400	4600	4600	4600	4600	4600	4600
	F	A	2400	4600	4600	4600	2400	1500	4600	4600
		B	930	4600	2400	4600	930	930	2400	930

* — CL = caldo lactosado e CTL = caldo triptose-lauril.

(continua)

QUADRO IV (continuação)

LOCAL DE AMOSTRAGEM (3.º dia)	sub- amos tra	PROVA DE PRESUNÇÃO				PROVA DE CONFIRMAÇÃO				
		Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)		
		CL*	CTL*	CL	CTL	CL	CTL	CL	CTL	
S1	R	A	930	210	930	930	150	210	150	210
	F	B	1500	230	4600	230	750	230	750	230
S2	R	A	390	430	2100	430	390	230	390	230
	F	B	230	930	430	930	230	210	230	930
S3	R	A	4600	4600	4600	4600	1500	2400	1500	4600
	F	B	4600	4600	4600	4600	2400	4600	2400	4600
S4	R	A	4600	4600	4600	4600	2400	930	2400	1500
	F	B	2400	4600	2400	4600	930	430	2400	2400
S5	R	A	430	430	430	430	230	150	430	150
	F	B	230	430	230	430	93	430	230	430
S6	R	A	430	390	430	430	150	93	150	390
	F	B	150	430	430	430	150	430	150	430
S7	R	A	23	430	430	430	230	430	230	430
	F	B	430	430	930	930	230	430	230	430
S8	R	A	930	430	1500	430	210	230	930	430
	F	B	430	23	750	230	230	230	230	230
S9	R	A	2400	430	4600	1500	930	750	930	1500
	F	B	930	430	2400	430	430	430	430	430
S10	R	A	2400	1500	2400	1500	930	930	930	930
	F	B	2400	430	4600	750	430	230	430	230
S11	R	A	430	230	930	430	75	43	30	43
	F	B	230	430	430	930	29	430	29	430
S12	R	A	430	430	930	930	430	430	430	430
	F	B	430	390	2400	390	230	390	230	390

* — CL = caldo lactosado e CTL = caldo triptose-lauril.

QUADRO V — Comparação entre o caldo triptose-lauril e o caldo lactosado na pesquisa de coliformes em amostras d'água das praias de São Vicente. N.M.P., por 100 ml, obtidos nas provas de presunção e confirmação, segundo o tempo de incubação da prova de presunção, local de amostragem, sub-amostra e dia da colheita.

LOCAL DE AMOSTRAGEM (1.º dia)	sub-amos- tra	PROVA DE PRESUNÇÃO				PROVA DE CONFIRMAÇÃO				
		Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)		
		CL*	CTL*	CL	CTL	CL	CTL	CL	CTL	
V1	R	A	750	4600	4600	4600	230	750	230	4600
		B	2400	930	2400	930	430	430	430	430
	F	A	750	210	1500	930	430	210	430	210
		B	930	750	2400	1500	150	750	430	750
V2	R	A	2400	930	2400	930	2400	430	2400	430
		B	930	230	2400	230	230	230	430	230
	F	A	930	430	930	930	230	230	230	230
		B	1500	2400	1500	2400	750	230	750	230
V3	R	A	1500	930	1500	930	430	230	930	230
		B	1500	430	1500	930	750	230	1500	930
	F	A	210	430	2400	430	150	430	430	430
		B	930	430	930	430	430	430	930	430
V4	F	A	1500	430	1500	2400	750	230	750	430
		B	430	430	4600	2400	430	2400	930	2400
	F	A	2400	430	2400	4600	430	230	930	430
		B	750	230	11000	930	430	430	430	930
V5	R	A	230	230	930	430	230	23	430	39
		B	230	930	430	2400	93	930	230	930
	F	A	230	230	430	430	93	230	230	230
		B	230	93	930	230	230	43	230	230
V6	R	A	430	230	930	930	93	430	430	430
		B	430	430	930	430	430	93	430	230
	F	A	230	2400	930	2400	230	430	430	430
		B	150	93	2400	430	93	93	150	93
V7	R	A	930	430	930	2400	930	210	930	930
		B	2400	230	2400	930	230	430	430	430
	R	A	930	230	1500	930	93	150	93	430
		B	430	430	1500	930	230	430	430	430

(continua)

QUADRO V (continuação)

LOCAL DE AMOSTRAGEM (2.º dia)		sub- amos- tra	PROVA DE PRESUNÇÃO				PROVA DE CONFIRMAÇÃO			
			Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)	
			CL*	CTL*	CL	CTL	CL	CLT	CL	CTL
V1	R	A	930	930	1500	930	430	930	930	930
	F	B	930	390	930	390	930	390	930	390
V2	R	A	230	430	430	930	230	930	230	930
	F	B	930	930	2400	2400	930	430	930	430
V3	R	A	150	430	150	430	150	430	150	430
	F	B	430	150	750	150	430	150	430	150
V4	R	A	430	230	930	430	430	430	930	430
	F	B	930	230	930	230	930	230	930	230
V5	R	A	43	93	93	430	23	23	43	23
	F	B	150	75	430	150	39	43	75	43
V6	R	A	430	93	430	93	93	93	93	93
	F	B	75	230	150	430	43	93	93	93
V7	R	A	930	150	930	430	230	150	230	150
	F	B	430	150	430	150	150	150	430	150
V7	R	A	930	230	2400	230	230	230	230	230
	F	B	430	430	930	430	150	430	430	430

* — CL = caldo lactosado e CTL = caldo triptose-lauril.

QUADRO VI — Comparação entre o caldo triptose-lauril e o caldo lactosado na pesquisa de coliformes em amostras d'água da Praia Grande. N.M.P., por 100 ml, obtidos nas provas de presunção e confirmação, segundo o tempo de incubação da prova de presunção, local de amostragem, sub-amostra e dia da colheita.

LOCAL DE AMOSTRAGEM (1.º dia)		sub-amostra	PROVA DE PRESUNÇÃO				PROVA DE CONFIRMAÇÃO			
			Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)	
			CL*	CTL*	CL	CTL	CL	CTL	CL	CTL
G1	R	A	> 110000	6400	110000	9500	> 110000	6400	> 110000	9500
		B	> 110000	2900	> 110000	2900	> 110000	2900	> 110000	2900
	F	A	110000	> 110000	110000	> 110000	110000	110000	110000	> 110000
		B	> 110000	110000	> 110000	110000	> 110000	110000	> 110000	110000
G2	R	A	110000	46000	110000	46000	110000	46000	110000	46000
		B	> 110000	> 110000	> 110000	> 110000	46000	> 110000	110000	> 110000
	F	A	46000	46000	110000	110000	46000	46000	110000	110000
		B	24000	46000	24000	46000	24000	46000	24000	46000
G3	R	A	24000	46000	24000	46000	24000	46000	24000	46000
		B	> 110000	24000	> 110000	24000	> 110000	24000	> 110000	24000
	F	A	46000	24000	46000	24000	46000	24000	46000	24000
		B	110000	24000	110000	24000	46000	24000	46000	24000
G4	R	A	11000	11000	11000	11000	11000	11000	11000	11000
		B	> 11000	11000	> 11000	11000	> 11000	11000	> 11000	11000
	F	A	11000	4600	> 11000	4600	11000	4600	> 11000	4600
		B	4600	4600	4600	4600	4600	4600	4600	4600
G5	R	A	4600	2400	46000	2400	4600	2400	4600	2400
		B	4600	2400	4600	2400	4600	930	4600	930
	F	A	4600	930	4600	930	4600	930	4600	930
		B	930	930	930	2400	930	930	930	2400

(continua)

QUADRO VI. (continuação)

LOCAL DE AMOSTRAGEM (1.º dia)	sub-amos- tra	PROVA DE PRESUNÇÃO				PROVA DE CONFIRMAÇÃO				
		Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)		
		CL*	CTL*	CL	CTL	CL	CTL	CL	CTL	
G6	R	A	930	430	930	430	930	230	930	230
	F	B	230	230	430	230	230	230	230	230
G7	R	A	750	230	4600	230	750	230	750	230
		B	930	930	2400	930	930	930	930	930
	F	A	390	150	750	430	390	150	390	150
		B	230	930	230	2400	230	930	230	930
G8	R	A	230	430	230	430	230	430	230	430
		B	430	230	430	230	430	230	430	230
	F	A	230	230	430	230	230	230	430	230
		B	230	210	230	930	230	93	230	230
G9	R	A	230	150	230	430	230	43	230	43
		B	430	230	930	230	430	43	430	43
	F	A	930	2400	930	2400	430	2400	430	2400
		B	230	150	430	430	230	93	230	430
G10	R	A	430	230	930	230	230	230	230	230
		B	230	430	430	430	230	430	230	430
	F	A	93	93	230	93	93	93	93	93
		B	230	230	230	230	230	23	230	93

* — CL = caldo lactosado e CTL = caldo triptose-lauril.

(continua)

QUADRO VI (continuação)

LOCAL DE AMOSTRAGEM (2.º dia)		sub-amos- tra	PROVA DE PRESUNÇÃO				PROVA DE CONFIRMAÇÃO			
			Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)	
			CL*	CTL*	CL	CTL	CL	CTL	CL	CTL
G1	R	A	230	<30	430	430	91	<30	91	36
		B	930	230	930	230	230	230	230	230
	F	A	91	36	91	230	36	91	91	230
		B	73	91	150	230	30	36	30	36
G2	R	A	30	<30	30	91	30	<30	30	36
		B	230	<30	230	<30	36	<30	91	<30
	F	A	36	36	91	91	<30	36	<30	36
		B	91	36	91	73	36	<30	36	36
G3	R	A	430	91	430	230	230	230	430	230
		B	91	36	91	150	91	73	91	150
	F	A	230	36	230	36	230	36	230	36
		B	150	<30	150	36	91	36	91	36
G4	R	A	23	23	23	23	9,1	3,6	23	3,6
		B	23	9,1	23	21	9,1	7,3	9,1	7,3
	F	A	43	15	43	93	3,6	3	3,6	15
		B	23	23	43	43	9,1	23	9,1	23
G5	R	A	9,1	<3	23	43	<3	<3	<3	3,6
		B	23	9,1	43	43	<3	9,1	<3	9,1
	F	A	23	23	23	43	3,6	9,1	3,6	23
		B	43	3,6	43	93	7,3	3,6	7,3	3,6

(continua)

QUADRO VI (continuação)

LOCAL DE AMOSTRAGEM (2.º dia)		sub- amos- tra	PROVA DE PRESUNÇÃO				PROVA DE CONFIRMAÇÃO			
			Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)	
			CL	CTL	CL	CTL	CL	CTL	CL	CTL*
G6	R	A	23	23	23	43	3,6	7,3	9,1	7,3
		B	9,1	7,3	23	93	3,6	11	3,6	11
	F	A	9,1	3,6	150	75	3,6	<3	3,6	<3
		B	9,1	7,3	93	75	3,6	<3	3,6	3,6
G7	R	A	43	3,6	43	93	<3	<3	7,3	7,3
		B	3,6	3,6	43	23	3,6	3,6	9,1	9,1
	F	A	9,1	9,1	23	14	<3	3,6	3,6	3,6
		B	23	9,1	23	230	9,1	<3	9,1	<3
G8	R	A	9,1	9,1	23	23	<3	<3	<3	<3
		B	23	9,1	39	120	9,1	<3	23	3,6
	F	A	14	<3	75	43	3,6	<3	9,1	<3
		B	43	3,6	93	15	3,6	<3	3,6	<3
G9	R	A	9,1	23	43	93	3,6	15	3,6	43
		B	43	9,1	43	23	3,6	<3	3,6	<3
	F	A	23	23	23	93	3,6	9,1	3,6	9,1
		B	23	23	43	240	3,6	9,1	9,1	9,1
G10	R	A	9,1	9,1	93	43	7,3	9,1	21	23
		B	23	15	23	93	3,6	7,3	23	15
	F	A	23	9,1	75	93	23	7,3	23	15
		B	43	9,1	75	43	9,1	3,6	15	3,6

* — CL = caldo lactosado e CTL = caldo triptose-lauril.

calculadas separadamente em dois grupos de locais de amostragem — 1 a 5 e 6 a 10 — dada a eficiência aparentemente diferente do caldo triptose-lauril, relativamente à do caldo lactosado, nos pontos de alta e baixa contaminação desta praia. Além das médias referidas, o quadro VII apresenta seus respectivos índices, calculados em relação às médias obtidas na confirmação das porções presuntivamente positivas em caldo lactosado às 48 h de incubação. A essas médias da prova de confirmação foi atribuído o valor 100. No cálculo das médias foram abandonados todos os exames que apresentaram valores indeterminados de N.M.P. em qualquer das provas realizadas.

Os resultados expressos em N.M.P. revelam que o emprêgo do caldo triptose-lauril resultou, em média, na obtenção de menores índices de contaminação das águas examinadas. A diferença foi muito pequena no caso de Santos, mas chega a ser bem grande no de São Vicente e da Praia Grande. Comparando-se os dados do quadro VII com os do quadro III, vê-se que as diferenças entre os dois meios de cultura se acentuam quando avaliados pelos N.M.P. Embora muitas dessas diferenças pareçam não ser significantes, chama a atenção o fato do caldo triptose-lauril, em média, sempre ter fornecido resultados menores.

Relativamente aos resultados da Praia Grande é interessante observar-se que a eficiência do caldo triptose-lauril, comparada com a do caldo lactosado, parece ser diferente conforme se consideram os locais de maior ou menor contaminação ou seja, no caso, os locais de contaminação mais recente e mais remota. Nos pontos G1 a G5, situados nos cinco quilômetros mais próximos ao local do lançamento dos esgotos de Santos e de São Vicente, o índice da média geométrica dos N.M.P. resultantes do uso do caldo triptose-lauril foi de 72; nos pontos G6 a G10, localizados nos cinco quilômetros seguintes, o índice respectivo foi de 83. Essa diferença poderia ser significativa, porém somente análise estatística, levando em consideração os fatores interferentes, permitiria afirmá-lo. Se fôr real tal diferença de eficiência, condicionada neste caso ao grau de contaminação, ela poderá corresponder realmente à idade e não à intensidade desse fator, dada a fonte praticamente única de contaminação existente na Praia Grande. Possivelmente estaria em jôgo a relação número de organismos esporulados sobre número de coliformes. Poder-se-ia, também, imaginar algum efeito relativo à idade dos coliformes. Os organismos dos locais mais afastados da fonte de contaminação, que se mostraram mais resistentes à água do mar, talvez se adaptassem melhor ao crescimento no caldo triptose-lauril.

CONCLUSÕES

a) Na determinação da densidade dos organismos coliformes nas águas das praias de Santos, São Vicente e Praia Grande, o emprêgo, na prova de presunção, do caldo triptose-lauril — que, no exame de águas doces, comparado com o caldo lactosado, tem se revelado grandemente vantajoso, pela diminuição de provas presuntivas falsas e pelo aumento do número de provas confirmadas — não demonstrou, em média, vantagem alguma.

QUADRO VII — Comparação entre o caldo triptose-lauril e o caldo lactosado na pesquisa de coliformes em amostras d'água das praias de Santos, São Vicente e Praia Grande. Médias geométricas dos N.M.P. por 100 ml, e índices correspondentes*, obtidos nas provas de presunção e confirmação, segundo o tempo de incubação da prova de presunção e o grupo de locais de amostragem.

PRAIA	Local de amostragem	PROVA DE PRESUNÇÃO POSITIVA				PROVA DE CONFIRMAÇÃO POSITIVA			
		Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)	
		caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril
Santos	Todos	880	750	1 430	1 170	490	470	590	560
	S1 a S6	149	127	242	198	83	80	100	95
São Vicente	Todos	510	350	1 030	620	270	240	390	290
	V1 a V7	131	90	264	159	69	62	100	74
Praia Grande	G1 a G5	1 320	580	1 510	1 060	760	540	870	630
		152	67	174	122	87	62	100	72
	G6 a G10	74	50	160	163	37	32	47	39
		157	105	340	317	79	68	100	83
	Todos	320	170	500	420	170	140	210	160
		152	81	238	200	81	67	100	76

* — Os números índices acham-se em negrito. O valor 100 foi atribuído as médias geométricas dos N.M.P. obtidos na confirmação das provas presuntivas positivas em caldo lactosado, na incubação até 48 horas.

b) A realização das provas de presunção em caldo triptose-lauril trouxe, realmente, diminuição do número de porções confirmadas. Examinando os resultados através do processo do “número mais provável”, as diferenças para menos, relativamente ao que foi obtido pelo uso do caldo lactosado, mais se acentuaram. Somente pesquisas semelhantes em outras águas marítimas poderiam revelar se este resultado é normal no exame da água de mar ou se é peculiar às águas examinadas.

c) A eficiência do caldo triptose-lauril parece sofrer a influência do grau, ou, possivelmente, da idade da contaminação. Isto é visível ao se examinarem, separadamente, os resultados referentes à primeira e à segunda metade da extensão investigada da Praia Grande. Na série de resultados obtidos, a inferioridade do caldo triptose-lauril foi mais acentuada nas águas dos cinco quilômetros próximos à origem da contaminação do que naquelas dos cinco quilômetros seguintes.

RESUMO

O emprêgo do caldo triptose-lauril na prova de presunção da pesquisa de coliformes nas águas, tem se demonstrado grandemente vantajoso, por ocasionar a evidenciação de maior número de porções confirmadas e pela economia de tempo e de material que proporciona aos laboratórios de contrôlo da potabilidade e balneabilidade de águas, graças à redução do número de provas presuntivas falsas. Este efeito se deve à propriedade que tem esse meio de restringir o crescimento de bactérias esporuladas. *A priori*, devido à pronunciada ação bactericida da água do mar e à resistência maior dos esporos, seria admissível que o uso do caldo triptose-lauril no exame das águas marítimas demonstrasse vantagem ainda maior que a evidenciada no exame das águas doces. Por isso, foi comparada sua eficiência com a do caldo lactosado no exame das águas das praias dos municípios de Santos e São Vicente.

Os exames de tôdas as amostras em cada meio foram feitos em duplicata. Foram examinadas, pela inoculação simultânea em ambos os meios, 104 amostras, 36 da praia de Santos, 28 das praias de São Vicente e 40 da Praia Grande. De tôdas, foram inoculadas em cada ensaio presuntivo, 3 porções de cada uma de 4 “diluições”. Examinaram-se, portanto, 2.496 porções em cada meio. Os resultados presuntivos positivos (em número de 3.002) foram verificados através da prova de confirmação, realizada em caldo bile-lactose-verde-brilhante. A técnica utilizada obedeceu aos métodos padrões da Associação Americana de Saúde Pública.

Os três primeiros quadros apresentam os números de porções positivas obtidas nas provas de presunção e de confirmação. Comparado com o caldo lactosado, o caldo triptose-lauril forneceu 7,6 e 4,9% menos de porções positivas na prova de presunção, lida às 24 e às 48 h de incubação, respectivamente; porém o número de porções confirmadas também foi menor, menos 3,6 e 3,8%, partindo-se, respectivamente, das provas presuntivamente positivas às 24 e às

48 h. Resultados semelhantes foram observados considerando-se separadamente as águas das praias de Santos, São Vicente e Praia Grande.

Analisados os dados pelo total de porções confirmadas — método que tem sido o usual em estudos desta natureza — pareceria justificável concluir-se pelo emprêgo facultativo de qualquer dos dois meios estudados, pois as diferenças, principalmente em Santos, são muito pequenas. Como êsse critério, quando se examina mais de uma “diluição” de cada amostra, está sujeito a êrro tendente a equalizar diferenças, os resultados foram também comparados em termos dos “números mais prováveis”, N.M.P., correspondentes ao exame de cada sub-amostra.

Os quadros IV, V e VI, respectivamente, apresentaram os N.M.P., por 100 ml, obtidos no exame das águas das praias de Santos, São Vicente e Praia Grande. No quadro VII é apresentada a média geométrica de cada uma dessas séries, achando-se a série da Praia Grande classificada em dois grupos, o da primeira e o da segunda metade da extensão investigada. Através dos N.M.P., as diferenças observadas entre os dois meios de presunção mostraram-se maiores que aquelas verificadas pelos totais de porções positivas.

Pode-se concluir que: a) nas águas examinadas, o emprêgo do caldo triptose-lauril não demonstrou, em média, vantagem alguma; b) trouxe, mesmo, diminuição do número de porções confirmadas; examinando-se os resultados através do processo do N.M.P., a inferioridade do caldo triptose-lauril se acenuou; c) a eficiência dêste meio presuntivo, no exame destas águas, parece sofrer a influência de grau ou, possivelmente, da idade da contaminação, porquanto sua inferioridade foi mais acentuada nas águas dos 5 quilômetros da Praia Grande próximos ao ponto onde os esgotos das cidades de Santos e São Vicente eram lançados *in natura* do que nas águas dos 5 quilômetros seguintes.

Sòmente pesquisas semelhantes em outras águas marítimas poderão revelar se a inferioridade do caldo triptose-lauril, aqui indicada, é normal nos exames de água de mar ou se é peculiar às águas examinadas.

SUMMARY

The use of lauryl-tryptose broth in the presumptive test of the bacteriological examination of water has been found to increase the number of coliform isolations. By reducing the number of false positives it affords also appreciable savings in time and material to the laboratories concerned with the control of the sanitary quality of water for drinking purposes. Since that culture medium inhibits the growth of spore-bearing bacteria, which in sea water are likely to survive to a greater extent than coliforms, one would expect that in the examination of sea water the medium should present a more pronounced advantage than for fresh water. In the present work, the efficiency of lauryl-tryptose broth was compared with that of lactose broth in the examination of water from Santos, São Vicente and Praia Grande beaches.

Duplicate tests were made with 104 samples (36 from Santos, 28 from São Vicente and 40 from Praia Grande) in both media. In each test 3 portions were inoculated for each of 4 dilutions, making up a total of 2,496 plantings in each medium. Whenever the presumptive tests were positive, their confirmation was sought in new tests performed in brilliant-green-lactose-bile broth. All techniques were followed according to the standard methods of the A.P.H.A.

In the presumptive tests, lauryl-tryptose broth gave 7.6 and 4.9 per cent less positive portions than lactose broth, after 24 and 48 h, respectively. In the confirmed tests, however, the number of positive portions was also smaller for lauryl-tryptose broth than for lactose broth, 3.6 and 3.8 per cent less portions being confirmed for 24 and 48 h positive presumptive tests, respectively. Analogous results are observed when the data corresponding to Santos, São Vicente and Praia Grande are considered separately.

The results obtained with the two culture media were also compared in terms of the "most probable numbers", as summarized in table VII, in which the geometric means of the MPN values are presented separately for the presumptive and confirmed tests of the Santos, São Vicente and Praia Grande beaches. In that table, data for Praia Grande are also presented in two groups of sampling points, G1 to G5 and G6 to G10.

It can be concluded that: (a) in the water of the beaches studied, the use of lauryl-tryptose broth did not show any advantage over that of lactose broth; (b) the number of confirmed portions was smaller for lauryl tryptose broth, a disadvantage in relation to lactose broth that appeared to be accentuated when the results are analysed by the "most probable numbers"; (c) the efficiency of lauryl-tryptose broth as a presumptive medium in the examination of these waters might be influenced by the degree or possibly the age of contamination, since the inferiority of this medium seemed intensified for the sections (G1 to G5) of Praia Grande nearest to the sewage outfall from the cities of Santos and São Vicente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Christovão, D. de A.; Azevedo Netto, J. M. & Jezler, H.: Investigação da contaminação das praias de Santos e São Vicente. Arq. Fac. Hig. Saúde Públi., **8**:167-188, 1954.
2. Cowsls, P. B.: A modified lactose broth for use in presumptive tests. J. A. W. W. A., **31**:979-982, 1938.
3. Darby, C. W. & Mallmann, W. L.: Studies on media for coliform organisms. J. A. W. A., **31**:689-693, 1939.
4. Decreto n. 24.806, de 25-7-1955: Regulamenta as leis ns. 2.182, de 23-7-1953 e 3.068, de 14-7-1955. (in Coleção de leis e Decretos do Estado de S. Paulo, **65**:184-191, 3.º trim. 1955).
5. Eisenhart, C & Wilson, P. W.: Statistical methods and control in bacteriology. Bact. Rev., **7**:57-13, 1943.

6. Fertig, J. W. & Heller, A. N.: The application of statistical techniques to sewage treatment processes. *Biometrics*, **6**:127-135, 1950.
7. Finney, D. J.: The estimation of bacterial densities from dilution series. *J. Hyg. (Lond.)* **49**:26-35, 1951.
8. Fisher, R. A.: cit. in Swaroop.
9. Fisher, R. A. & Yates, F.: Statistical tables for biological, agricultural and medical research. 4th ed. Edinburg, 1953.
10. Glossary: water and sewage control engineering [edited by] APHA, ASCE, AWWA & FSIWA. s.L., s.d.
11. Greenwood. M. Jr & Yule, G. U.: On the statistical interpretation of some bacteriological methods employed in water analysis. *J. Hyg. (Lond.)* **16**:36-54, 1917.
12. Hajna, A. A. & Perry, C. A.: Comparative study of presumptive and confirmative media for bacteria of the coliform group and for fecal streptococci. *Am. J. publ. Hlth*, **33**:550-556, 1943.
13. Halverson, H. O. & Ziegler, N. R.: Application of statistics to problems in bacteriology. *J. Bact.*, **25**:101-121, 1933.
14. Hoskins, J. K.: The most probable numbers of *B. coli* in water analysis. *J. A. W. W. A.*, **25**:867-877, 1933.
15. —: Most probable numbers for evaluation of coli-aerogenes tests by fermentation tube methods. *Publ. Hlth Rep.*, **49**:393-405, 1934.
16. Mallmann, W. L. & Darby, C. W.: Uses of a lauryl sulfate tryptose broth for the detection of coliform organisms. *Amer. J. publ. Hlth*, **31**:127-134, 1941.
17. Mc Crady, M. H.: cit. in Swaroop.
18. — A practical study of lauryl sulfate tryptose broth for detection of the presence of coliform organisms in water. *Amer. J. publ. Hlth*, **33**:1199-1207, 1943.
19. Reed, L. J.: *B. Coli* densities as determined from various types of samples. *Publ. Hlth Rep.*, **40**:704-716, 1925.
20. Standard methods for the examination of water, sewage, and industrial wastes; prepared and published jointly by American Public Health Ass., American Water Works Ass., Federation of Sewage & Industrial Wastes Ass. 10th ed. New York, 1955.
21. Swaroop, S.: The range of variation of the most probable number of organisms estimated by the dilution method. *Ind. J. med. Res.*, **39**:107-134, 1951.
22. — Estimation of bacterial density of water samples. Methods of attaining international comparability. *Bull. Wild. Hlth Org.*, **14**:1089-1107, 1956.
23. Woodward, R. L.: How probable is the most probable number? *J. A. W. W. A.*, **49**:1060-1068, 1957.