

Departamento de Indústria, Inspeção e Conservação de
Produtos Alimentícios de Origem Animal
Prof. contratado — Paschoal Mucciolo

A PROVA DA PRECIPITAÇÃO EM INSPEÇÃO DE CARNES - AÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO NA PREPARAÇÃO DE SÔROS DE ALTO TÍTULO

POR

Paschoal Mucciolo

O inspetor de carnes chamado a estabelecer diferenças entre carcassas ou órgãos dos vários animais de açougue terá tarefa relativamente fácil, reportando-se aos caracteres anatômicos e físico-organolépticos peculiares às carnes das espécies em exame. O mesmo não acontece, entretanto, quando a intervenção do técnico é solicitada para discernir da proveniência de pequenos fragmentos de carnes — produtos embutidos — casos em que os caracteres citados nenhuma elucidação trazem, cedendo lugar às mais variadas provas de laboratório.

As substituições fraudulentas dizem respeito à carne fresca ou às carnes por qualquer forma manipuladas, isto é, aos diversos produtos de salsicharia cuja composição é frequentemente alterada, posto que, preparações dessa natureza se prestam perfeitamente a ludibriar não só a vigilância sanitária, como também a boa fé do consumidor, adquirindo carnes de espécie não indicada no momento da compra.

De tôdas as fraudes dêsse tipo é a substituição da carne de bovino pela de equino a mais frequente e a que, mesmo nos países onde a hipofagia entrou para o uso público, tem merecido especial atenção por parte das autoridades competentes, no sentido de coibir abusos de fabricantes inescrupulosos, como o afirma PIETTRE (1).

E' interessante notar que, embora presentemente não se faça, entre nós, uso de carne dessa espécie doméstica, nosso Regulamento (2) cogite, em sua secção II do capítulo VII, da matança de equídeos e é muito prudente e explícito, com o fim de evitar equívocos, quando torna obrigatório, nos produtos elaborados com carnes dessa espécie, a apresentação de marcas e legendas bem visíveis declarando a qualidade da carne empregada.

Em se tratando de carne fragmentada e já industrializada a distinção de espécie só poderá ser feita com vistas aos caracteres químicos das carnes, físico-químicos das gorduras ou pelo teste biológico.

Analisemos rapidamente essas diversas provas quanto à sua eficiência e facilidade de execução, tecendo crítica sumária das mesmas.

Os métodos químicos mais usados para revelar carne de cavalo são: a dosagem do glicogênio e os índices de iodo e de saponificação das gorduras; êstes dois últimos índices também se prestam para reconhecimento de carnes de outras espécies.

Entre as provas de uso corrente nos laboratórios encarregados da fiscalização e policiamento dos produtos alimentícios de origem animal ainda se enquadram: os pontos de fusão e solidificação e o índice de refração das gorduras.

Sendo necessário revelar a substituição fraudulenta da carne de bovino pela de equino, quer se trate de carne fresca ou de embutidos, o método de Mayrhofer-Polenske, aconselhado nestes casos pelas obras clássicas de BERTOLINI (3) e PIETTRE (1), é de valor relativo e como diz textualmente êste último autor «os resultados obtidos são sobretudo teóricos». De fato, a carne de equino possui alto teor em glicogênio comparativamente às carnes dos outros animais de açougue, variando entretanto essa quantidade com o estado de nutrição e de fadiga do animal e com os grupos musculares em exame. Além disso, carnes fetais e as de outras espécies domésticas podem conter apreciável quantidade de glicogênio como acontece com as de vitelos caquéticos, incluindo EDELMANN (4) neste grupo, as carnes de cães e gatos. Em se tratando de verificar a fraude em embutidos as dificuldades aumentam consideravelmente porque como fazem notar Gauthier e Bujard (Cit. de BERTOLINI), não só o glicogênio, por ação de enzimas especiais, se transforma em glicose, como também desaparece sob influência da salgação e defumação.

A dosagem do glicogênio, apresentando algum valor para diferenciar carnes frescas, não pode servir, pois, de base suficientemente sólida para a inspeção de embutidos pelas razões já enumeradas, sem considerarmos que, sendo empregado o amido como aglutinante das misturas de alguns desses produtos, os dois hidratos de carbono ficam igualmente insolúveis na potassa alcoólica e sua separação exige manipulações longas e demoradas.

Os outros métodos citados, referindo-se aos caracteres físico-químicos das gorduras, uns exigindo técnica e laboratórios especializados, outros implicando em aparelhagem custosa, como é o caso do índice de refração, não se prestam a estabelecer diferença nítida entre as gorduras das várias espécies. Basta lembrar que, sendo a gordura de cavalo diferente das gorduras de bovino, caprino e ovino por conter em sua composição maior quantidade de gliceridos do ácido oleico, linólico e palmítico enquanto estas últimas contêm normalmente grande proporção de gliceridos de ácido esteárico, e daí ser fácil a identificação, o mesmo não se dá com a gordura de suíno, em cuja

composição os gliceridos do ácido linólico têm a primasia. Dêsse fato se depreende que nenhuma distinção se poderá fazer entre produtos preparados com carnes de cavalo e de suíno, unicamente baseada nos caracteres da composição química da gordura. A estas dificuldades se ajunte que nem sempre o material sujeito a exame é discretamente rico em gordura, pois sobretudo a fraude da troca de carne de bovino pela de equino tem por objetivo o aproveitamento das carnes de animais esgotados ou doentes e, por êsses motivos, retirados de sua habitual função zootécnica.

E' ao teste biológico, pondo em evidência determinados caracteres das albuminas, traindo dêsse modo suas origens, que cabe incontestável valor na investigação das fraudes por substituição, não só nas carnes frescas como nos produtos de carne picada.

Ao tratar do assunto, incluem FARRERAS e SANZ EGAÑA (5) entre os métodos biológicos utilizados em inspeção, a precipitação, a anafilaxia e a fixação do complemento a que podemos ajuntar o método baseado sôbre a pesquisa do antígeno Forssmann, proposto por E. Césari (Cit. de BERTOLINI) para a repressão de fraudes nos produtos cárneos submetidos à cocção. Enquanto a anafilaxia, a fixação do complemento e a pesquisa do antígeno Forssmann, não tiveram até agora larga aplicação prática, deixando de se alinhar entre as provas de uso corrente em inspeção, servindo as duas primeiras apenas como testes suplementares de contrôle, no dizer de OSTERTAG (6), a precipitação mostrou-se um meio preciso e seguro para a diferenciação das carnes, pelo que sua importância é unânimemente reconhecida pelos autores clássicos.

*

* *

Feitas estas considerações sôbre os vários métodos empregados para caracterizar carnes dos diversos animais sob várias formas utilizadas na alimentação do homem, passaremos a nos ocupar do teste das precipitinas ou dos sôros precipitantes, único objetivo do presente trabalho. (*)

Não é nosso propósito referir aqui a natureza, mecanismo e técnica da reação, mas apenas diremos que o método repousa na possibilidade de obter sôros, precipitando «in vitro» a albumina homologa áquela que serviu como antígeno, sendo o coelho o animal de escolha para a imunização.

Os antígenos têm todos os caracteres de especificidade e são, no estado atual de nossos conhecimentos, exclusivamente representa-

(*) Usámos a técnica descrita por BERTOLINI e CAZZELLA (3) pgs. 178-184.

dos pelas substâncias proteicas, conforme as modernas concepções da teoria físico-química da imunidade. Essa especificidade não é, entretanto, atributo de espécie, como faziam entrever as antigas explicações dos fenômenos imunitários, mas obedecem unicamente aos caracteres químicos do antígeno. Ora, oferecendo as proteínas uma variedade considerável de composição, pelo infinito número de combinações possíveis dos amino-ácidos seus constituintes, está claro que a especificidade se mostrará também extremamente variável.

Por essa razão podemos observar uma espécie animal oferecendo muitos antígenos, enquanto que um mesmo antígeno pode fazer parte de espécies diferentes, como relata FONSECA RIBEIRO (7). No primeiro caso, tomando emprestado os exemplos do autor citado, encontramos no ovo de galinha cinco antígenos individualizados, no sôro de cavalo três proteínas de caracteres imunológicos distintos enquanto a caseína de um animal é facilmente diferenciada dos outros constituintes proteicos do leite e do sôro. Por outro lado, não se podem diferenciar as albuminas cristalizadas dos ovos de galinha e de pata, as caseínas dos animais de diferentes espécies ou as proteínas do cristalino, que oferecem as mesmas características para tôdas as espécies.

As manifestações de especificidade que acabámos de ver nos exemplos citados, antes só evidenciáveis pela delicadeza das reações de imunidade, à luz dos modernos conhecimentos, já têm expressão química definida e daí ser a especificidade mais ligada à constituição química do antígeno que à origem biológica do mesmo.

Fato interessante é o de certos radicais químicos que introduzidos na molécula proteica lhe conferem caracteres antigenéticos especificamente novos, a ponto de se conseguirem anticorpos pela imunização de um animal com suas próprias proteínas modificadas. Entre êsses radicais capazes de se enxertarem às proteínas, chamados haptenas por Landsteiner (cit. FONSECA RIBEIRO), temos: hidratos de carbono, formol, ácido nítrico, iodo, ácido metanílico e outros, cuja especificidade é de tal modo evidente a ponto de tornar possível discriminar compostos químicos isômeros. Caberia assim a êsses radicais todo o valor de especificidade quando ligados a uma proteína caracteristicamente dotada de poder antigenético.

As reações de grupo observadas na prática entre espécies afins explicam-se, pois, pela presença de uma proteína comum às mesmas ou talvez de um mesmo radical químico emprestando-lhes características semelhantes.

Acresce notar que a especificidade dos sôros precipitantes é tanto mais evidente quanto mais alto fôr seu título. Isto quer dizer que, obtendo sôros muito sensíveis, capazes de precipitar albumina

homóloga extremamente diluída, a reação será então muito mais intensa e rápida, fazendo desaparecer assim as confusões ou interpretações errôneas quando se põe em prática o teste biológico. Nessas condições, o método ganhará toda a eficiência e precisão de extrita especificidade.

ACÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO ESTIMULANDO A PRODUÇÃO DE PRECIPITINAS

Foi nosso intuito ao iniciarmos o presente trabalho, a obtenção de sôros precipitantes de título elevado, contribuindo assim a tornar mais eficiente o teste biológico, acreditando que com isto possa o mesmo vir em auxílio do técnico encarregado de se pronunciar com segurança sôbre as substituições fraudulentas a que estão sujeitos os produtos de carne.

JUSATZ (8) submetendo coelhos, injetados com sôro normal de cavalo, a um regime alimentar pobre em vitaminas verificou que o poder precipitante e bactericida do sôro dêesses animais era relativamente baixo e quasi nulo quando a alimentação era autoclavada a 120°. Procurando precisar o fator determinante do baixo índice bactericida do sôro e que tanta influência exercia na produção de anticorpos específicos, êste A. introduziu, parceladamente, no regime alimentar dêesses animais de experiência, as vitaminas *A*, *B*, *C* e *D*. Dêesse modo conseguiu demonstrar que, a adição de vitamina *A*, em doses progressivas, não faz reaparecer o poder bactericida do sôro nos animais avitaminados. A administração de vitamina *D*, em doses fracas, não influencia a produção de anticorpos que passa a ser relativamente escassa quando os animais em carência recebem doses fortes dessa vitamina. Quanto à vitamina *B*, pode JUSATZ constatar que a adição da mesma (dose de 15 grs. de levedo) à nutrição não melhora a produção de anticorpos. Empregando a vitamina *C* observou que, embora não exercendo influência quando adicionada à nutrição, o ácido ascórbico aumenta de duas vêzes o poder bactericida do sôro e cinco vêzes o título das precipitinas específicas, sendo injetado por via venosa. MADISON e MANWARING (9) confirmaram mais tarde os trabalhos de JUSATZ estabelecendo que a adição de ácido ascórbico ao sôro de cavalo na dose de 100 mg. em 0,5 cc. de água destilada (20 %) e injetado por via venosa em coelhos, determina um título mais elevado do sôro precipitante e uma aceleração da reação de precipitação. Puderam ainda observar que as doses maciças de ácido ascórbico impedem a produção de anticorpos e, neste fato, certamente, reside o insucesso obtido por alguns experimentadores, porquanto a dose ótima de vitamina varia de 37,5 mg. (MADISON e col.)

a 66 mg. (JUSATZ). E' de se notar que, enquanto MADISON e col. empregaram a vitamina juntamente com o antígeno em injeções repetidas, JUSATZ recomenda o uso da mesma imediatamente antes da injeção do antígeno.

*
* *

De posse desses resultados, iniciámos nossas observações com uma série de 5 coelhos (quadro n.º 1) dos quais um veio a morrer antes mesmo de ser sangrado:

QUADRO N.º 1
Ação do ácido ascórbico na produção de precipitinas

Dias de inoculação	Sêro normal de cavalo	Solução de ácido ascórbico	Observações	Título precipit. (média)
1.º	1 cc.	—	—	—
6.º	1 cc.	—	—	—
12.º	1 cc.	—	—	—
18.º	1 cc.	—	—	—
26.º	—	1 cc.	Sangria	1:500
29.º	—	—	Sangria	1:1.000

A imunização feita com sêro normal de cavalo em quatro injeções de 1 cc., com intervalo de seis dias, resultou um sêro-coelho anticavalo de título igual a 1:500 em média. No mesmo dia dessa primeira sangria injetámos, em todos os animais de experiência, 1 cc. de uma solução de ácido ascórbico (*) em água destilada a 8 % ou seja dose de 0,080 mg. Passados tres dias procedemos a uma segunda sangria, revelando então o sêro obtido um título precipitante de 1:1.000.

Feitas estas experiências preliminares, usando sempre sêro normal de cavalo como antígeno, iniciámos a imunização de mais um grupo de quatro animais (coelhos), como indica o quadro n.º 2.

À primeira sangria seguiu-se a injeção da solução de ácido ascórbico nas mesmas condições da experiência anterior, variando apenas o título da solução de vitamina que, no presente caso, foi de 9 % ou seja 0,090 mg. por animal.

Dos resultados por nós obtidos, confirmando os trabalhos de JUSATZ, MADISON e col., quanto à ação estimulante da vitamina C, sobre a produção de anticorpos precipitantes quando administrada por

(*) Procedência: J. D. RIEDEL — E. DE HAËN A. C. Berlin.

QUADRO N.º 2
Ação do ácido ascórbico na produção de precipitinas

Dias de inoculação	Sôro normal de cavalo	Solução de ácido ascórbico	Observações	Título precipit. (média)
1.º	1 cc.	—	—	—
8.º	2 cc.	—	—	—
18.º	2,5 cc.	—	—	—
27.º	3 cc.	—	—	—
39.º	—	1 cc.	Sangria	1:2.000
52.º	—	—	Sangria	1:32.000
54.º	1 cc.	—	—	—
56.º	—	—	Sangria	não houve
57.º	—	1 cc.	—	—
59.º	—	—	Sangria	1:2.000
67.º	—	—	Sangria	1:1.000

via venosa, ainda podemos concluir não serem necessárias doses repetidas de ácido ascórbico quer no início da imunização, quer injetadas simultaneamente com o antígeno. De fato, ainda utilizando os mesmos animais da experiência anterior, procedemos a mais uma observação, quadro n.º 3,

QUADRO N.º 3
Ação do ácido ascórbico na produção de precipitinas

Dias de inoculação	Sôro normal de cavalo	Solução de ácido ascórbico	Observações	Título precipit. (média)
1.º	1 cc.	—	Sangria	Não houve
7.º	1,5 cc.	—	—	—
14.º	2 cc.	—	—	—
21.º	2,5 cc.	—	—	—
33.º	—	1 cc.	Sangria	1:4.000
38.º	—	—	Sangria	1:8.000

iniciando a reimunização, tendo o cuidado de verificar antes a ausência, em seu sôro, de qualquer poder precipitante, o que foi feito depois de trinta dias de terminada a primeira imunização. Empregámos também neste caso uma única injeção da solução de ácido ascórbico a 10 % (dose de 0,100 mg.), conseguindo do mesmo modo ativar a produção de anticorpos específicos, fato que se revelou pelo título precipitante mais elevado conferido ao sôro.

Sendo, portanto, relativamente fácil conseguir sôros cujos títulos precipitantes alcancem cifras muito elevadas prescindindo de muitas inoculações de antígeno, pelo simples emprego de uma única injeção de ácido ascórbico no fim da imunização, o teste biológico adquire sua máxima eficiência na caracterização das carnes dos vários animais de açougue. De técnica fácil, não exigindo aparelhagem de espécie alguma, pode o teste biológico ser realizado não só nos laboratórios especializados como também nas inspeções anexas aos estabelecimentos que elaboram produtos de salsicharia.

• INFLUENCIA DO ÁCIDO ASCÓRBICO NA PRODUÇÃO DE AGLUTININAS ESPECÍFICAS

Tendo obtido resultados tão satisfatórios com o emprego da vitamina C em animais produtores de sôros precipitantes, quisemos estender nossas observações, procurando saber qual o comportamento da mesma na produção de aglutininas.

MADISON e colaboradores (10) injetaram doses maciças de ácido ascórbico em coelhos submetidos à imunização com glóbulos de carneiro e bactérias de várias espécies vivas ou mortas, verificando que o teor em aglutininas dos sôros desses animais decrescia grandemente, na razão de 60 %. Estudando o mesmo assunto, MONTALTI e PASSE-RINI (11) puderam observar que a produção de aglutininas antitíficas era prejudicada quando os animais produtores de sôro eram submetidos a dietas deficientes ou enriquecidas com ácido ascórbico. Por outro lado, CATTANEO e MORELLINI (12) verificaram um aumento da produção de aglutininas anticóli quando, aos animais em imunização, eram administradas substâncias redutoras do tipo do hiposulfito de sódio, ácido ascórbico e adrenalina, substâncias estas empregadas pelos autores citados em suas experiências.

Em vista de resultados tão discordantes obtidos pelos experimentadores que se ocuparam do assunto, procurámos modificar a técnica por eles utilizada, não só empregando cavalos como animais de experiência, como também usando doses mais fracas da vitamina em questão por via venosa.

Os animais por nós utilizados foram vinte cavalos submetidos à imunização diftérica (*). Desses animais dez serviram de testemunhos, enquanto os restantes foram divididos em dois grupos.

Os animais do primeiro grupo, em número de quatro, receberam, em plena imunização, três injeções de ácido ascórbico na dose de 5 grs. por via venosa, exceção feita para o animal de n.º 73

(*) Consignamos aqui os nossos sinceros agradecimentos aos dirigentes do Instituto Pinheiros que tão gentilmente nos facultaram os recursos para essa experiência.

que apenas foi injetado uma vez (quadro n.º 4). Essas injeções de vitamina foram aplicadas com intervalo de sete dias não conseguindo influenciar, de modo evidente, o poder antitóxico do sôro, diminuindo-o mesmo em alguns casos.

QUADRO N.º 4
Ação do ácido ascórbico na produção de aglutininas

Data		Animal n.º 69	Animal n.º 70	Animal n.º 73	Animal n.º 75
18/3/40	Toxina	200	200	200	200
	Floculação	0,05	0,1	0,03	0,05
	Peso	348	320	320	325
25/3/40	Toxina	250	250	250	250
	Floculação	0,04	0,08	0,02	0,04
	Peso	340	315	310	325
1/4/40	Toxina	300	300	—	300
	Ácido ascórbico	5,0 grs.	5,0 grs.	5,0 grs.	5,0 grs.
	Floculação	0,04	0,08	0,03	0,04
	Peso	340	310	—	330
	Observações	—	—	Sangria 12 litros	—
8/4/40	Toxina	350	350	—	350
	Ácido ascórbico	5,0 grs.	5,0 grs.	—	5,0 grs.
	Floculação	0,04	0,08	0,03	0,04
	Peso	340	315	315	335
16/4/40	Toxina	400	400	—	400
	Ácido ascórbico	5,0 grs	5,0 grs.	—	5,0 grs.
	Floculação	0,05	0,08	—	0,04
	Peso	340	310	—	325
24/4/40	Floculação	0,05	0,08	—	0,04
	Peso	335	—	—	—
	Observações	Sangria 12 litros	Sangria 12 litros	—	Sangria 12 litros
14/5/40	Toxina	100	—	100	100
	Peso	345	—	345	325
18/5/40	Toxina	200	—	200	200
	Peso	350	—	350	325
22/5/40	Toxina	300	300	300	300
	Floculação	0,12	0,12	0,06	0,06
	Peso	355	300	340	325
27/5/40	Toxina	400	400	400	400
	Floculação	0,05	0,08	0,03	0,04
	Peso	350	300	330	334

O segundo grupo (quadro n.º 5), constituído de seis animais dos quais o de n.º 203 só foi injetado duas vèzes com doses de 2 grs. de ácido ascórbico, recebeu até 10 grs. de vitamina, sempre por via venosa. Esta última dose, aplicada por duas vèzes com intervalo de sete dias nos animais dêsse grupo, exceto para os de n.ºs 203 e 213, não apresentou resultados concordantes. E' assim que, permanecendo

QUADRO N.º 5

Ação do ácido ascórbico na produção de aglutininas

Data		Animal n.º 203	Animal n.º 204	Animal n.º 205	Animal n.º 207	Animal n.º 208	Animal n.º 213
23/3/40	Toxina	40	40	40	40	40	40
	Peso	300	300	296	360	295	365
28/3/40	Floculação . .	—	0,2	0,2	0,05	—	0,12
	Peso	—	305	305	370	—	365
29/3/40	Toxina	60	60	—	60	60	60
	Floculação . .	0,2	—	—	—	—	—
	Peso	300	—	—	—	290	—
2/4/40	Toxina	80	80	80	80	80	80
	Ácido ascórbico	2,0 grs.	2,0 grs.	2,0 grs.	—	2,0 grs.	—
	Floculação . .	0,2	0,2	0,05	0,04	0,15	0,1
	Peso	300	300	300	365	290	365
9/4/40	Toxina	100	100	100	100	100	100
	Ácido ascórbico	2,0 grs.	2,0 grs.	2,0 grs.	2,0 grs.	2,0 grs.	—
	Floculação . .	0,2	0,5	0,05	0,04	0,15	0,08
	Peso	300	300	295	360	290	363
15/4/40	Toxina	—	130	130	130	130	130
	Ácido ascórbico	—	5,0 grs.	5,0 grs.	5,0 grs.	5,0 grs.	—
	Floculação . .	0,2	0,15	0,05	0,04	0,15	0,08
	Peso	—	295	290	—	295	365
17/4/40	Observações .	Sangria 6 litros	—	—	—	—	—
22/4/40	Toxina	—	170	170	170	170	170
	Ácido ascórbico	—	10,0 grs.	10,0 grs.	10,0 grs.	10,0 grs.	10,0 grs.
	Floculação . .	—	0,15	0,04	0,04	0,15	0,08
	Peso	—	290	290	—	290	368
	Observações .	Passou para o tetano	—	—	—	—	—
29/4/40	Toxina	—	200	200	200	200	200
	Ácido ascórbico	—	10,0 grs.	10,0 grs.	10,0 grs.	10,0 grs.	—
	Floculação . .	—	0,12	0,04	0,04	0,15	0,08
	Peso	—	295	290	360	300	370
6/5/40	Floculação . .	—	0,12	0,03	0,05	0,15	0,08
	Peso	—	—	—	350	—	—
	Observações .	—	Sangria 6 litros	Sangria 12 litros	Sangria 12 litros	Sangria 6 litros	Sangria 12 litros

inalterado o valor da floculação para o sôro de um dos animais, o de n.º 208, registrou-se entretanto ligeiro aumento desse valor para os outros animais desse grupo. Verificamos que esse teor, mais alto em aglutininas, não correu por conta da injeção da vitamina pois, como se nota para o animal n.º 207, o sôro apresentou poder antitóxico mais elevado antes de ser injetado com ácido ascórbico, permanecendo, nessas condições, até o fim da observação.

QUADRO N.º 6
Ação do ácido ascórbico na produção de aglutininas

Data		Animal n.º 209	Animal n.º 210	Animal n.º 211	Animal n.º 218	Animal n.º 212	Animal n.º 214	Animal n.º 216	Animal n.º 217	Animal n.º 219	Animal n.º 220
23/3/40	Toxina	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
	Peso	330	400	370	390	310	325	395	330	350	320
28/3/40	Floculação	0,2	0,2	0,2	0,12	0,1	0,2	0,08	0,12	0,06	0,2
	Peso	340	405	375	396	325	320	395	332	370	320
29/3/40	Toxina	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
2/4/40	Toxina	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
	Floculação	0,2	0,15	0,15	0,1	0,1	0,12	0,06	0,08	0,05	0,2
	Peso	345	400	363	390	312	323	395	320	360	310
9/4/40	Toxina	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	Floculação	0,15	0,12	0,12	0,1	0,12	0,1	0,06	0,06	0,05	0,15
	Peso	345	400	370	385	315	325	390	320	350	305
15/4/40	Toxina	130	130	130	130	130	130	130	130	130	130
	Floculação	0,12	0,12	0,12	0,1	0,12	0,1	0,06	0,06	0,06	0,15
	Peso	335	390	355	385	300	315	390	320	355	300
	Observações . . .	Passou para o tetano	—	—	—	—	—				
22/4/40	Toxina						170	170	170	170	170
	Floculação						0,12	0,06	0,06	0,06	0,15
	Peso						310	380	310	345	290
29/4/40	Toxina						200	200	200	200	200
	Floculação						0,1	0,06	0,06	0,06	0,15
	Peso						310	390	320	350	300
6/5/40	Floculação						0,12	0,06	0,06	0,06	—
	Observações . . .						Sangria 6 litros Passou para o tetano	Sangria 12 litros	Sangria 12 litros	Sangria 12 litros	Sangria 6 litros

Reproduzimos no quadro n.º 6 a imunização procedida com o grupo de animais testemunhos e o respectivo título de floculação de seus sôros facilitando êsses dados, tomados como têrmo de comparação, a interpretação dos resultados obtidos com os animais submetidos ao tratamento com ácido ascórbico. Podemos, dêsse modo, verificar que o poder antitóxico do sôro dos animais injetados com vitamina C não foi influenciado favoravelmente pela mesma, chegando, pelo contrário, em um caso, (animal n.º 69) a ser fracamente prejudicado quando se comparam os resultados oferecidos pelos animais dos grupos vitaminizados e do grupo testemunho.

— Cabe-nos externar os nossos agradecimentos ao Prof. Fonseca Ribeiro pela orientação e auxílio prestados na elaboração dêste trabalho.

CONCLUSÕES

Do que foi exposto é lícito concluir:

1) O ácido ascórbico tem notável ação estimulante sôbre a produção de precipitinas, quando injetado por via venosa.

2) Não são necessárias, para que tal ação se verifique, injeções repetidas da vitamina juntamente com o antígeno (MADISON e col.), nem tão pouco tratamento vitamínico intensivo imediatamente antes da imunização (JUSATZ). Uma injeção apenas de ácido ascórbico, imediatamente depois de terminada a imunização, é suficiente para conferir alto título precipitante ao sôro.

3) Tendo em vista a facilidade de obtenção de sôros altamente precipitantes, o teste biológico pode, vantajosamente, se alinhar entre as provas de rotina dos laboratórios especializados e daqueles anexos aos estabelecimentos onde se elaboram produtos de salsicharia, vindo em auxílio do técnico encarregado de caraterizar carnes dos vários animais.

4) Nessas condições, o teste biológico oferecendo toda a segurança e precisão de estrita especificidade deve, na pesquisa de fraudes por substituição, ser preferido a tôdas as provas de laboratório atualmente empregadas.

5) Empregando doses mais fracas de ácido ascórbico do que os autores citados (MADISON e col., MONTALTI e PASSERINI), servindonos de cavalos como animais de experiência, não conseguimos resultados satisfatórios na produção de aglutininas, quando a vitamina C é injetada por via venosa.

PRECIPITIN TEST IN MEAT INSPECTION
ACTION OF ASCORBIC ACID ON THE PREPARATION OF
HIGH TITRE SERUMS

From the above we may conclude:

- 1) *Ascorbic Acid has remarkable stimulating action on the production of precipitins when injected into the vein.*
- 2) *The repeated injection of vitamin with antigen (Madison and co-workers) is not necessary for that action to take place, nor is necessary the intensive treatment with the vitamin before the immunization (JUSATZ). A single injection of Ascorbic Acid, immediately after immunization, is sufficient to give the serum high precipitating titre.*
- 3) *Having in view the facility in obtaining highly precipitating serums, the biological test may, advantageously, be included with the routine tests in specialised laboratories, and those of establishments where sausages are manufactured, becoming a help to the expert employed in characterizing the flesh of various animals.*
- 4) *In such conditions the biological test, offering entire sureness and strict precision in specificity, should be preferred to all laboratory tests presently employed in the investigation of fraud by substitution.*
- 5) *Employing weaker doses of Ascorbic Acid than those prescribed by the mentioned authors (Madison and co-workers, Montalti and Passerini) and using horses as experimental animals, we have not obtained satisfactory results in the production of agglutinins, when vitamin C is injected into the vein.*

BIBLIOGRAFIA

- 1) — PIETTRE, M. — Inspection des viandes et des aliments d'origine carnée. Industrie et législation. Viande saine. Paris, J. B. Baillièere et fils, 1921.
- 2) — MINISTERIO DA AGRICULTURA — DEPARTAMENTO NACIONAL DA PRODUÇÃO ANIMAL — Regulamento da Inspeção federal de carnes e derivados. 2.^a ed. Rio de Janeiro, Diretoria de Estatística da Produção, 1935.
- 3) — BERTOLINI, G. — CAZZELLA A. — Ispezione delle carni. Igiene generale. Torino, Unione tipografico editrice torinese, 1928.
- 4) — EDELMANN, R. — Text-book of meat hygiene. 6th. ed. London, J. & A. Churchill, 1933.
- 5) — FARRERAS — SANZ EGAÑA — La inspección veterinaria en los mataderos, mercados y vaquerias. 3.^a ed. Barcelona, Revista Veterinaria de España, 1935.
- 6) — OSTERTAG, R. V. — Text-book of meat inspection. London, Baillièere, Tindal & Cox, 1934.
- 7) — RIBEIRO, D. FONSECA — Alguns aspectos da teoria físico-química da imunidade. In Memorial apresentado para o concurso ao cargo de professor catedrático de Química orgânica e biológica na Fac. Med. Vet. São Paulo. 1936.

- 8) — JUSATZ, H. J. — Der Einfluss der Vitamine auf den Immunitätszustand des tierischen Organismus I. Die fettlöslichen Vitamine A und D. II. Wasserlösliche Vitamine. *Zeitschr. Immun. forsch.* 88: 472/83, 1936. Ref. *Bull. Inst. Pasteur*, 35 (1): 32/3, 1937.
- 9) — MADISON, R. R. — MANWARING, W. H. — Ascorbic acid stimulation of specific antibody production. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 37, 402. Ref. *Bull. Inst. Pasteur* 37 (4): 232, 1939.
- 10) — MADISON, R. R. — FISH M. — FRICK O. — Vitamin C inhibition of agglutinin production. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 39, 54/7, 1938. Ref. *Chemical Abstracts* 33 (18): 7385.
- 11) — MONTALTI, M. — PASSERINI P. — Influence of ascorbic acid on the production of anti-typhoid agglutinins. *Boll. Ist. Sieroterap. Milan.* 17, 495/503, 1938. Ref. *Chemical Abstracts* 33 (9): 3428.
- 12) — CATTANEO, C. — MORELLINI, M. — Action of sodium hyposulfite, ascorbic acid and adrenaline on the experimental production of agglutinins. *Boll. Ist. Sieroterap Milan.* 18, 52/6, 1939. Ref. *Chemical Abstracts* 33 (9): 3446.