

## DIAFANIZAÇÃO DE ESFREGAÇOS DE FEZES

Claúdio Santos FERREIRA \*  
Maria Esther de CARVALHO \*

RSPSP-113

FERREIRA, C. S. & CARVALHO, M. E. de —  
*Diafanização de esfregaços de fezes.*  
Rev. Saúde públ., S. Paulo, 6:19-23,  
1972.

RESUMO: Nas mesmas condições de turbidez (transmitância = 50%), as médias das quantidades de fezes por unidade de área de esfregaço sofrem acréscimos quando, ao invés de água, usam-se diluentes de índices de refração mais elevados. Calculados como fatores, esses acréscimos foram, em média, 3,17 para a solução de sacarose a 54% (n = 1,438), 1,95 para a solução de glicerina a 50% (n = 1,411) e 1,50 para a solução de sacarose a 30% (n = 1,385). A absorciometria fotoelétrica mostrou-se adequada à avaliação do rendimento do processo de diafanização de esfregaços de fezes.

UNITERMOS: *Esfregaços fecais\**; *Diafanização\**; *Índice de refração\**; *Absorciometria*.

### INTRODUÇÃO

A quantidade de material contida por unidade de área de uma preparação fecal é limitada pela turbidez máxima compatível com a identificação de elementos parasitários.

O baixo índice de refração da água

(n = 1,333) torna pouco transparentes os objetos microscópicos nela imersos (BAKER<sup>1</sup>, 1950). Meios de índices de refração mais elevados aumentam o rendimento do microscópio, sendo preferíveis. Os meios de montagem podem ser divididos em dois grandes grupos: miscíveis e não miscíveis em água (ROMEIS<sup>6</sup>, 1948).

A diafanização de esfregaços de fezes por meio de óleo de cedro (n = 1,505) foi proposta por HEIN<sup>4</sup> (1927). Embora ofereça bom rendimento, há necessidade de prévia dessecação das preparações, o que torna inidentificáveis os ovos de várias espécies de helmintos, impossibilitando também a pesquisa de cistos de protozoários.

A glicerina, um dos meios de montagem de uso mais freqüente dentre os miscíveis em água, é empregada em solução aquosa a 50%, na técnica de Kato e Miura para a preparação de esfregaços espessos de fezes (KOMIYA & KOBAYASHI<sup>5</sup>, 1966).

Considerando a analogia entre os métodos gerais de diafanização usados em microscopia ótica, efetuamos determinações turbidimétricas de suspensões de

fezes em água (n = 1,333), solução de sacarose a 30% (n = 1,385), solução de glicerina a 50% (n = 1,411) e solução de sacarose a 54% (n = 1,438). A turbidimetria fotoelétrica, empregada no presente estudo, possibilita a avaliação objetiva do rendimento do processo.

O estado de conservação e as condições de visibilidade dos ovos de helmintos presentes em diversas das amostras de fezes examinadas foram objeto de verificação.

#### MATERIAIS E MÉTODOS

##### *Materiais:*

a) Câmaras para fotometria (Fig. 1) feitas a partir de lâminas de microscopia, para conter preparações de 1 mm de espessura;

c) solução de glicerina a 50% v/v em água (n = 1,411);

d) solução de sacarose a 30% p/v em água (n = 1,385);

e) solução de sacarose a 54% p/v em água (n = 1,438).

Os índices de refração foram determinados com refratômetro de Abbe.

##### *Métodos:*

Amostras de fezes humanas normais (sólidas), em número de 20, foram diluídas em água e nas soluções mencionadas. Os resíduos sólidos macroscópicos, excluídos por meio de catação.

De cada amostra de fezes foram separadas 4 porções de mesmo peso e diluí

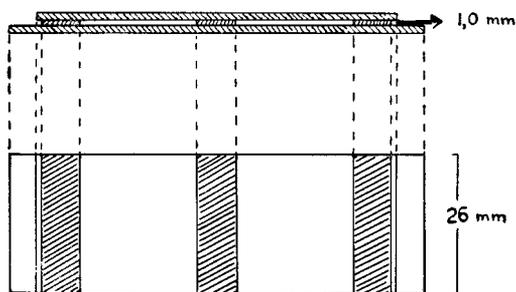


Fig. 1 — Câmara para fotometria.

b) absorciômetro basicamente semelhante ao proposto por BEAVER<sup>2</sup> (1949), dotado de célula fotorresistiva de CdS (LDR Phillips) e escala de transmitância. O diâmetro do feixe luminoso incidente sobre a célula (após passagem pela câmara) foi reduzido para 5 mm. Usaram-se diafragmas para evitar a entrada de luz difusa. A aferição foi feita por meio de filtros de transmitância conhecida, determinada com fotômetro graduado em "footcandles" (FERREIRA & CARVALHO<sup>3</sup>, 1971);

das a 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 e 1:160 em água e nas três soluções referidas.

Após homogeneização, transferiram-se, sucessivamente, tôdas as suspensões para as câmaras, determinando-se as respectivas transmitâncias em relação à água destilada. Consideraram-se valores médios de leituras correspondentes a diversas regiões das preparações. Para cada diluição fecal, calculou-se a quantidade de material contida em uma área de 768 mm<sup>2</sup> (24 x 32 mm) de uma câma-

ra de 1 mm de altura. Nas condições mencionadas, as suspensões a 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 e 1:160 contém, respectivamente, 80, 40, 20, 10 e 5 mg de fezes.

Tendo BEAVER<sup>2</sup> (1949) sugerido o valor de 50% de transmitância para a padronização de esfregaços de fezes diluídos em água, calcularam-se, por meio de interpolação linear, as quantidades de fezes (de cada amostra e em cada diluente) contidas em esfregaços de 24 x 32mm e transmitância de 50%. O acréscimo da quantidade de fezes permitido pelas soluções diafanizadoras, em esfregaços com 50% de transmitância, expresso como fator, indica a eficiência do processo.

Ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Hymenolepis nana*, *Schistosoma mansoni* e ancilostomídeos, presentes em várias das amostras, foram examinados em preparações delgadas, entre lâmina e lamínula, sob aumento de 400 diâmetros, para a verificação de eventuais alterações morfológicas. Não foram pesquisados protozoários.

## RESULTADOS

Para cada amostra, no mesmo diluente e nas mesmas condições de transmitância, a quantidade de fezes por área unitária variou dentro de amplos limites.

Dentro de uma mesma amostra, em todos os casos, as menores quantidades de fezes por preparação com 50% de transmitância (31,2 mg em média), correspondem ao material diluído em água. As suspensões em soluções de sacarose a 30%, glicerina a 50% e sacarose a 54% apresentam, como valores médios, respectivamente 46,5, 60,4 e 98,8 mg.

Os acréscimos calculados como fatores são, em média, respectivamente 1,50, 1,95 e 3,17 para as três soluções.

Uma permanência durante 48 horas, do material em qualquer das três soluções, não resultou em alterações morfológicas que dificultassem a identificação dos ovos de helmintos encontrados.

Os dados quantitativos da experiência constam da Tabela e da Figura 2.

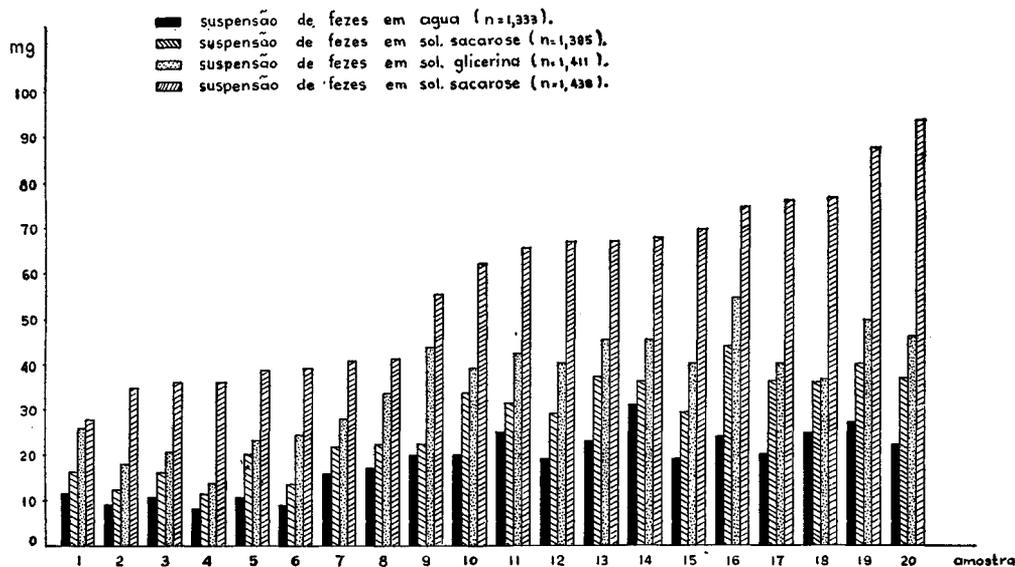


Fig. 2 — Quantidade de fezes contida em preparações de 24 x 32mm e transparência = (transmitância = 50%).

DISCUSSÃO

Embora a quantidade de fezes contida em esfregaços diluídos em água, padronizados quanto às dimensões e à turbidez, possa variar dentro de amplos limites, evidencia-se a utilidade da diafanização como um meio de aumentar o

rendimento do exame de esfregaços diretos de fezes. Nos casos em estudo, esse rendimento mostrou-se tanto maior quanto mais elevado o índice de refração do meio. No caso da solução de sacarose a 54%, entretanto, foi consideravelmente superior ao do de índice de refração imediatamente inferior.

TABELA

Quantidade de fezes em mg a 50% de transmitância em preparações de 24 x 32 mm.

Amostra	Fezes em água n = 1,333	Fezes em Sol. sacarose n = 1,385		Fezes em Sol. glicerina n = 1,411		Fezes em Sol. sacarose n = 1,438	
	mg	mg	fator *	mg	fator *	mg	fator *
01	19,7	27,8	1,42	44,0	2,24	47,0	2,38
02	15,4	21,2	1,38	30,8	2,00	59,2	3,78
03	18,1	27,7	1,52	35,2	1,95	61,2	3,37
04	13,8	19,7	1,41	23,3	1,68	61,3	4,42
05	17,8	34,2	1,93	39,7	2,23	65,7	3,69
06	15,2	22,9	1,52	41,5	2,13	66,6	2,74
07	26,7	37,0	1,37	47,5	1,77	69,2	2,60
08	28,9	38,3	1,33	57,2	1,92	70,2	2,41
09	34,2	38,5	1,13	74,5	2,18	94,5	2,76
10	34,2	57,2	1,68	66,7	1,95	106,0	3,10
11	42,7	53,3	1,25	71,8	1,68	111,5	2,90
12	32,2	49,6	1,54	68,3	2,16	113,5	3,55
13	39,2	63,2	1,62	77,0	1,97	113,5	2,92
14	53,0	61,2	1,25	77,0	1,45	115,0	2,17
15	32,5	50,0	1,54	63,3	2,11	113,0	3,63
16	40,8	74,5	1,84	92,3	2,28	126,5	3,12
17	34,2	61,2	1,79	67,8	1,98	129,2	3,78
18	42,3	61,2	1,45	62,2	1,47	130,0	3,12
19	46,2	67,8	1,41	84,6	1,85	143,5	3,01
20	37,6	63,0	1,67	73,2	2,08	159,0	4,25

\* Quantidade de fezes em água x fator = quantidade de fezes na solução indicada.

CONCLUSÕES

As determinações de valores de turbidez fecais em termos de percentagens de transmitância mostraram-se adequadas à avaliação, de modo objetivo, do rendimento de processos de diafanização de esfregaços de fezes.

A análise dos resultados obtidos com

substâncias de vários índices de refração dará flexibilidade ao critério de escolha dos meios, conciliando-se propriedades óticas com as de preservação dos caracteres morfológicos dos parasitas. A pesquisa de protozoários em material diafanizado poderá decorrer de estudos nesse campo.

RSPSP-113

FERREIRA, C. S. & CARVALHO, M. E. de — [Clearing of fecal smears]. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 6:19-23, 1972.

**SUMMARY:** Under the same conditions of turbidity (transmittance = 50%) the average amounts of feces per unit smear area are increased when diluents with high refractive indices are substituted for water. Such increments, calculated as factors, were on the average: 3.17 for 54% sucrose ( $n = 1.438$ ); 1.95 for 50% glycerol ( $n = 1.411$ ); and 1.50 for 30% sucrose ( $n = 1.385$ ) aqueous solutions. Photoelectric absorptiometry was found adequate for evaluating the efficiency of fecal smear clearing processes.

**UNITERMS:** Fecal smears\*; Clearing\*; Refractive index\*; Absorptiometry.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAKER, J. R. — Cytological technique. 3rd ed. London, Methuen, 1950. Cap. 8.
2. BEAVER, P. C. — Quantitative hookworm diagnosis by direct smear. *J. Parasit.*, 35:125-35, 1949.
3. FERREIRA, C. S. & CARVALHO, M. E. de — Simplificação do método de Beaver para a padronização de esfregaços de fezes. Nota prévia. *Rev. paul. Med.*, 78:35, 1971.
4. HEIN, G. — Cedar oil as an aid in finding parasitic ova in feces. *J. Lab. clin. Med.*, 12:1117-8, 1927.
5. KOMIYA, Y. & KOBAYASHI, A — Evaluation of Kato's thick-smear technic with a cellophane cover for helminth eggs in feces. *Jap. J. med. Sci. Biol.*, 19:59-64, 1966.
6. ROMEIS, B. — Mikroskopische Technik, 15. Aufl. Muenchen, Leibniz Verlag, 1948.

Recebido para publicação em 25-10-1971

Aprovado para publicação em 7-1-1972