

Recentes técnicas para coloração de protozoários em tecidos

pelo

Dr. R. Pimenta de Mello*, **G. Santa Rosa** e **P. F. de Almeida Lopes****

A identificação de protozoários em tecidos, apresenta alguns problemas técnicos, pois ao lado de uma perfeita coloração do parasito, necessário se torna também, uma coloração que nos permita o reconhecimento dos elementos celulares dos tecidos parasitados.

Os métodos compreendendo exclusivamente o emprêgo da hematoxilina férrica, apesar de tornar possível uma perfeita e completa identificação dos protozoários, não nos possibilita todavia, um estudo citológico acurado do tecido onde êles se localizam. Em virtude dêste facto, diversos métodos foram recentemente introduzidos na prática corrente, contando-se entre os mais importantes, os seguintes:

a) WHEATLEY (1) empregou o método do tricromo de Gomori, que segundo nossa opinião, apesar de corar intensamente as hemáticas fagocitadas pela *E. histolytica*, o que sem dúvida facilita a procura, não satisfaz inteiramente porque a coloração nuclear é deficiente;

b) GRIDLEY (2) utilizou a técnica preconizada anteriormente por MICHAEL e MARKELL (3), consistindo na aplicação dos corantes usados por PAPANICOLAOU para o estudo da citologia exfoliativa. Se, em esfregaços, esta técnica apresenta bons resultados, em tecidos é todavia deficiente;

c) GOLDMAN (4,5) empregou uma simples solução de hematoxilina férrica para a coloração de protozoários em esfregaços de fezes. A morfologia dêstes é perfeita apreciada, porém o tecido circunvizinho é pouco evidenciado.

d) LILLIE (6) recomenda a técnica de GOLDMAN em preparações histológicas, utilizando para êsse fim uma complicada e demorada hematoxilina férrica, seguida do método de VAN GIESON para coloração de fundo.

* Divisão de Patologia do Instituto Oswaldo Cruz.

** Bolsistas da Divisão de Patologia do Instituto Oswaldo Cruz.
Recebido para publicação em 28 de agosto de 1958.

Métodos:

Empregamos essencialmente duas técnicas, que nos deram magníficos resultados, não só sob o ponto de vista de grande diferenciação histológica, como também pela coloração perfeita de três espécies de protozoários com os quais tivemos oportunidade de experimentar.

Método 1

Fixação: Zenker, Zenker-formol ou formol.

Coloração nuclear:

Solução de hematoxilina férrica segundo GOLDMAN (1947)

Solução A

Hematoxilina a 1% em álcool a 95%

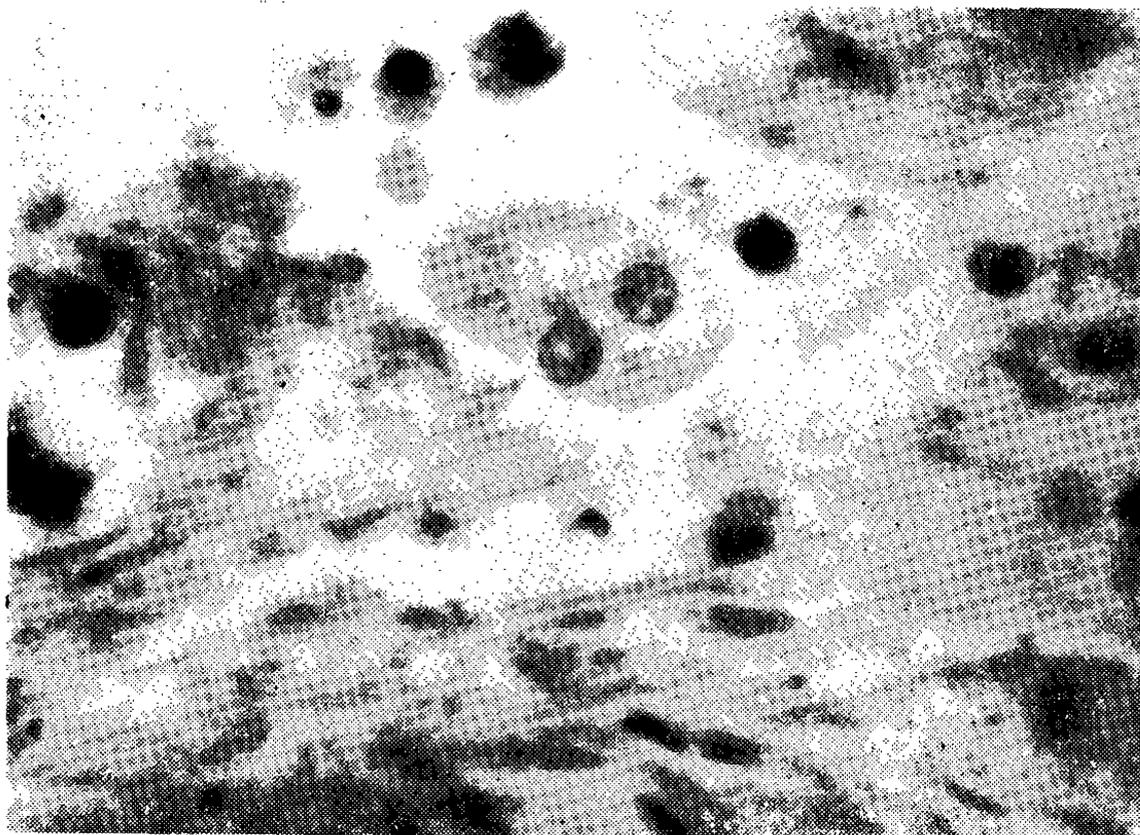
Solução B

Sulfato férrico amoniacal	4.0	g
Ácido acético glacial	1.0	ml
Ácido sulfúrico concentrado	0.12	ml
Água destilada	100.0	ml

Misturar partes iguais de solução A e solução B. Deixar em repouso durante uma noite. Filtrar. A solução assim preparada poderá ser usada durante seis dias.

Coloração de fundo e histológica:

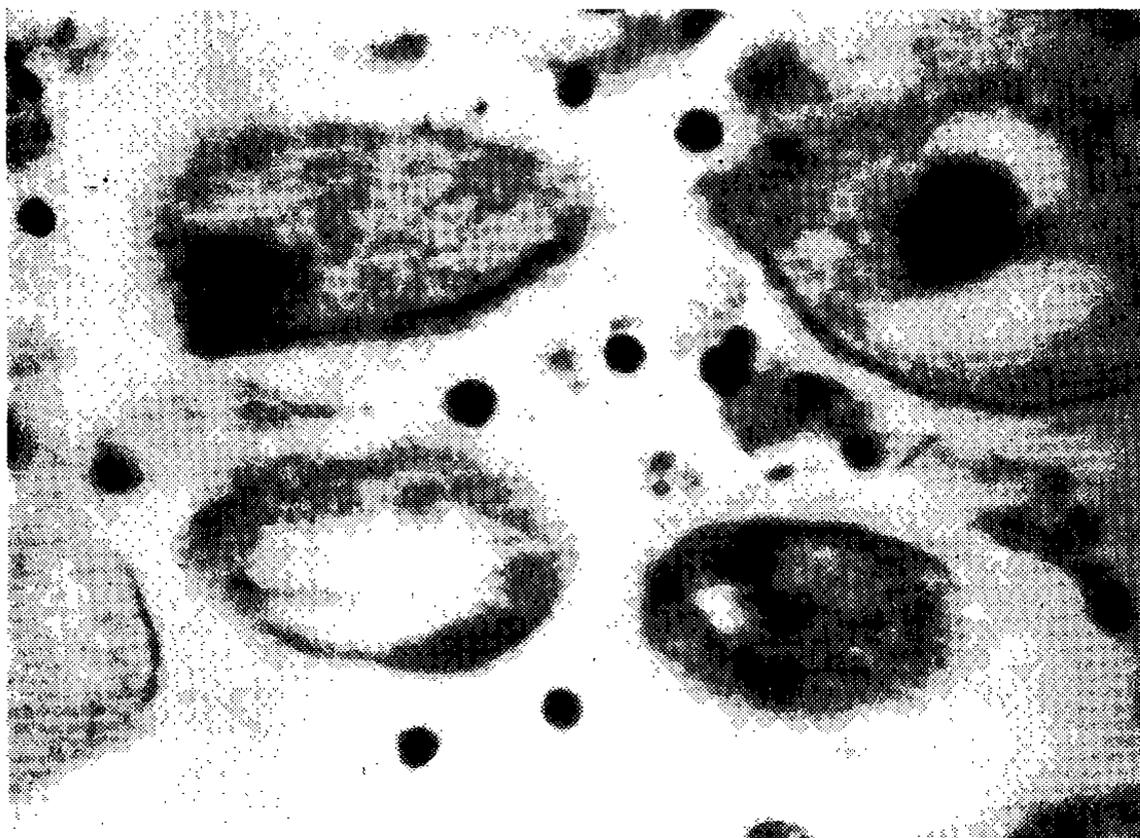
Fucsina ácida a 1%	5.0	ml
Ácido pícrico sol. saturada aquosa	/ 95,0	ml
Ácido clorídico concentrado	0.25	ml



Técnica:

Corar na solução nuclear durante 3 a 5 minutos. Lavar em seguida em água corrente durante cinco minutos e corar finalmente na solução para coloração de fundo e histológica durante cinco minutos. Desidratar e fechar. Os núcleos se apresentam em cinzento escuro ou negro, dependendo do tempo de coloração, sendo de notar-se a fina estrutura da rêde cromatínica nuclear. O tecido muscular cora-se em amarelo e o colágeno em vermelho.

O emprêgo dêste método deu-nos magníficos resultados em casos de *E. histolytica* (fig. 1) não se apresentando todavia muito brilhante na coloração do *Balantidium coli* e na *Giardia intestinalis*.



Método 2

Fixação: a mesma da técnica anterior.

Coloração nuclear:

A mesma técnica do método 1.

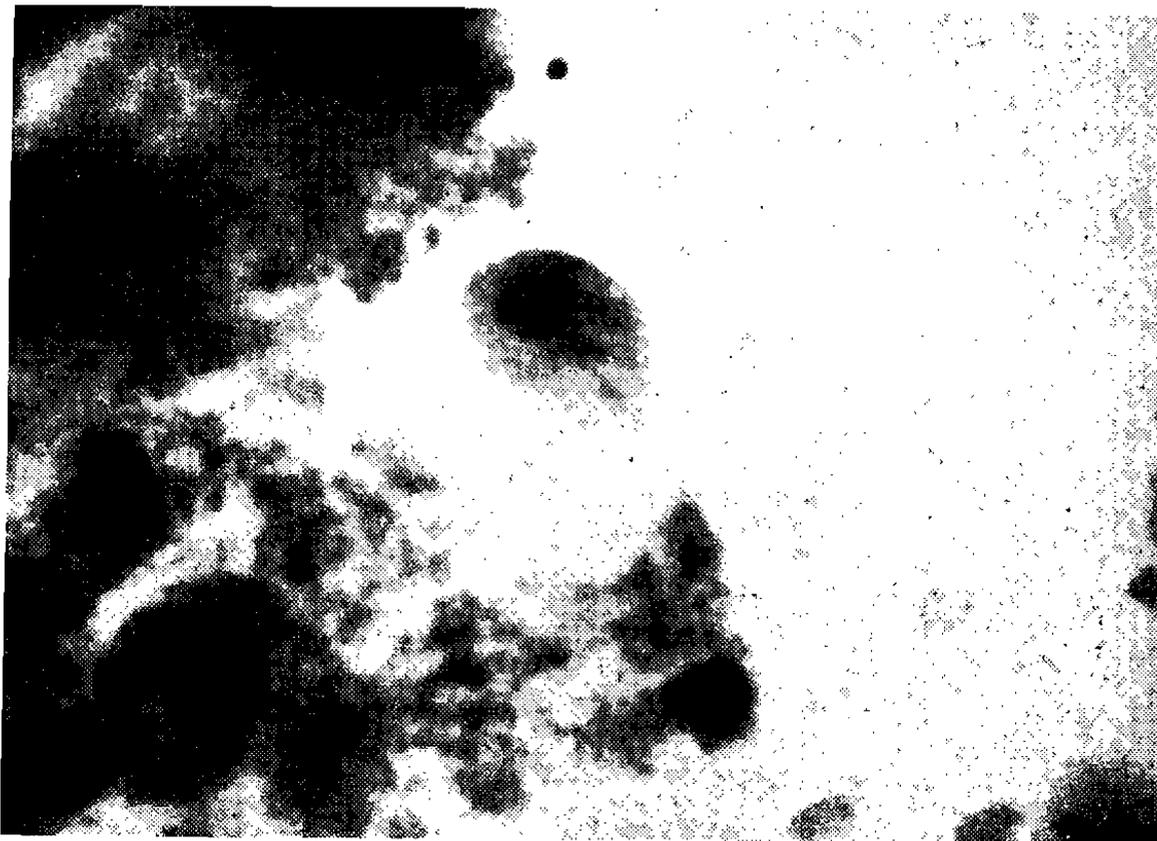
Coloração histológica:

Tricromo de Gomori com a seguinte fórmula:

Chromotrope 2R	0.6 g
Light green SF ou Fast green F.C.F.	0.3 g
Ácido fosfotúngstico	0.7 g
Ácido acético glacial	1.0 ml
Água destilada	100.0 ml

Diluimos na proporção de 1 : 2 com água destilada e coramos durante 10 minutos. Desidratar e fechar. Os núcleos coram-se em pardo escuro, hemátias em laranja (muito útil pela possibilidade de identificar indiretamente a *E. histolytica*), tecido muscular em vermelho e colágeno em verde.

Esta técnica, mostrou-se muito eficiente para a coloração do *Balantidium coli* (fig. 2). Quanto à *Giardia intestinalis* os melhores resultados foram conseguidos por uma coloração durante 24 horas com o tricromo de Gomori (fig. 3).



SUMÁRIO

Os autores depois de apresentarem alguns métodos recentemente descritos para a coloração de protozoários intestinais em tecidos, apresentam dois métodos que pela simplicidade e rapidez que apresentam, são sem dúvida superiores a todos anteriormente utilizados.

SUMMARY

The authors have described two new methods for the identification of intestinal protozoa in tissue. The first method is based on iron hematoxin of GOLDMAN. The second one is based on the Gomori's Trichrome. The first method has a great advantage over the other methods because of the fast coloration of the slides.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — WHEATLEY, W. B. — A rapid staining procedure for intestinal amoebae and flagellates. *Am. J. Clin. Path.* 21, 990, 1951.
- 2 — GRIDLEY, M. F. — Stain for *Endamoeba histolytica* in tissue sections. *Am. J. Clin. Path.* 24, 243, 1954.
- 3 — MICHAEL, F. & MARKELL, E. K. — Modified Papanicolaou stain for amebae. *Am. J. Clin. Path.* 19, 91, 1949.
- 4,5 — GOLDMAN, M. — A single solution iron-hematoxilin stain for intestinal protozoa. *Stain tech.* 24, 57, 1949.
- 6 — LILLIE, R. D. — *Histopathologic technic and practical histochemistry.* The Blakiston Co. 1954.