

## AVALIAÇÃO DE MASSAS ESPECÍFICAS DE CISTOS DE *Giardia duodenalis* E *Entamoeba coli*

Maria da Luz Ribeiro MOITINHO (1) & Cláudio Santos FERREIRA (2)

### RESUMO

Cistos de *Giardia duodenalis* e *Entamoeba coli* foram observados quanto à flutuação em soluções de sacarose de massas específicas diversas (1.040, 1.050, 1.060, 1.070, 1.080, 1.090, 1.100, 1.150, 1.200 e 1.250 kg/m<sup>3</sup>), contidas em câmaras de contagem de 0,17 mm de altura. Contaram-se os cistos que flutuaram e os que sedimentaram tendo sido calculadas as porcentagens respectivas. As diferenças de flutuabilidade dos cistos de cada uma das espécies não foram consideráveis. Soluções de massa específica igual a 1.200 kg/m<sup>3</sup> fizeram flutuar 88,49% dos cistos de *G. duodenalis* e 95,71% dos de *E. coli*. Os maiores valores de flutuabilidade estiveram associados à massa específica 1.250 kg/m<sup>3</sup> e foram, respectivamente, 89,15% e 98,59% para cistos de *G. duodenalis* e de *E. coli*.

**UNITERMOS:** Flutuabilidade de cistos de protozoários; Coproscopia parasitológica; *Giardia duodenalis*; *Entamoeba coli*.

### INTRODUÇÃO

Várias das técnicas de concentração usadas em coproscopia parasitológica estão associadas à massa específica das frações que compõem o material a examinar.

Estudos de massa específica de elementos parasitários por meio de gradientes de densidade incluem os trabalhos de FERREIRA & CARVALHO (1971)<sup>2</sup>, de MOITINHO (1980)<sup>3</sup>, de DAVID & LINDQUIST (1982)<sup>1</sup>, de MOITINHO & FERREIRA (1984)<sup>4</sup> e de MOITINHO et al. (1986)<sup>5</sup>.

Menos laboriosa do que a técnica de centrifugação em gradientes de densidade é a que usa câmaras, adotada por SILVA (1984)<sup>7</sup> na investigação de massas específicas de amostras de ovos de helmintos, tendo como base o trabalho de SAWITZ et al. (1939)<sup>6</sup> que investigaram a flutuabilidade de ovos de ancilostomídeos usando técnica análoga.

Embora informações sobre massas específicas de parasitas sejam freqüentes na literatura sua distribuição em populações de parasitas requer revi-

são, especialmente no caso de cistos de protozoários.

Neste trabalho é analisada a distribuição de conjuntos de cistos de *Giardia duodenalis* e *Entamoeba coli* que flutuam ou que sedimentam, por meio do uso de câmaras, em soluções de massas específicas iguais a 1.040, 1.050, 1.060, 1.070, 1.080, 1.090, 1.100, 1.150, 1.200 e 1.250 kg/m<sup>3</sup>.

### MATERIAL E MÉTODOS

**Suspensões em água de cistos de *G. duodenalis* ou *E. coli*:** provenientes de fezes humanas colhidas com antecedência não superior a 48 horas e mantidas à temperatura de refrigerador (4°C) até a ocasião do processamento. Separadas as partículas macroscópicas por meio de tamisação, a suspensão foi submetida a centrifugação durante 5 minutos a 800 g, processo repetido até que resultasse sobrenadante límpido.

Foram processados dois conjuntos de 17 suspensões fecais, cada um deles contendo exclusivamente cistos de *G. duodenalis* ou *E. coli*.

### Soluções de sacarose comercial em água

(1) Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.

(2) Departamento de Parasitologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Endereço para correspondência: Dr. Cláudio Santos Ferreira, Departamento de Parasitologia, Edifício Biomédicas II, Universidade de São Paulo, CEP: 05508, São Paulo, SP.

**destilada:** preservadas por meio de fenol, diluídas de modo a obterem-se após adição das suspensões fecais, os valores de massas específicas: 1.040, 1.050, 1.060, 1.070, 1.080, 1.090, 1.100, 1.150, 1.200 e 1.250 kg/m<sup>3</sup>.

**Câmaras de contagem:** confeccionadas a partir de lâminas de microscopia às quais foram colados suportes retangulares de 0,17 mm de altura (cortados de lamínulas) limitando câmaras de 16 x 18 x 0,17 mm.

**Flutuabilidade:** para as determinações de flutuabilidade foram misturadas suspensões fecais e soluções de sacarose de modo a resultarem os valores de massas específicas previstos. Alíquotas das misturas resultantes foram sucessivamente transferidas, por meio de pipetas Pasteur, para as câmaras de contagem. Utilizando-se ótica de 200 aumentos contaram-se os cistos flutuantes, aderidos à parede superior da câmara, e os que sedimentaram, repousando sobre a parede inferior da mesma.

## RESULTADOS

A Tabela 1 e a Figura 1 mostram os resultados, em termos de porcentagens, de flutuabilidade de cistos de *G. duodenalis* ou *E. coli* imersos em soluções de sacarose de diferentes massas específicas.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A flutuabilidade de cistos de protozoários intestinais do homem foi estudada por MOITINHO et al. (1986)<sup>5</sup> no intervalo de massas específicas entre 1.100 e 1.250 kg/m<sup>3</sup>, por meio de gradientes de densidade. Presentemente a flutuabilidade de cistos de *G. duodenalis* ou *E. coli* é estudada den-

Tabela 1

Flutuabilidade de cistos de *Giardia duodenalis* e *Entamoeba coli* em soluções de sacarose de massas específicas diversas.

Massa Específica (kg/m <sup>3</sup> )	<i>Giardia duodenalis</i>		<i>Entamoeba coli</i>	
	cistos Nº	flutuação %	cistos Nº	flutuação %
1040	11670	0,01	4300	0,00
1050	11249	0,73	3744	0,03
1060	9438	4,94	3814	1,00
1070	8479	27,15	3506	3,79
1080	9199	44,94	2989	19,54
1090	10056	52,52	3145	50,36
1100	10244	63,76	3454	78,29
1150	9902	81,11	3997	94,95
1200	4536	88,49	2077	95,71
1250	2664	89,15	1488	98,59

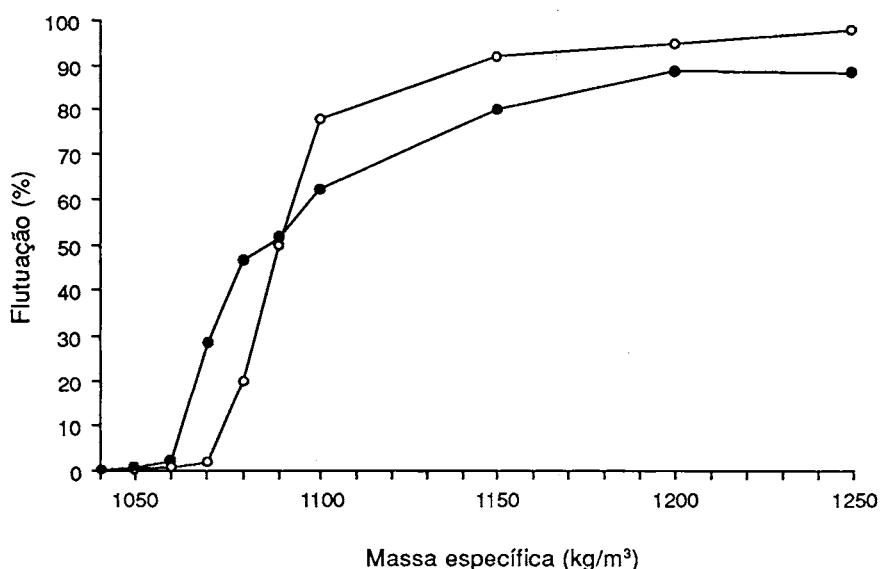


Figura 1 - Flutuabilidade de cistos de *Giardia duodenalis* (●—●) e *Entamoeba coli* (○—○) em soluções de sacarose de massas específicas diversas.

tro de um intervalo mais amplo de valores de massa específica, entre 1.040 e 1.250 kg/m<sup>3</sup>.

A técnica da câmara, mais simples do que a de gradientes, permite calcular porcentagens acumuladas de cistos que flutuam ou sedimentam quando imersos em soluções de massas específicas conhecidas.

As porcentagens de flutuação de cistos de *G. duodenalis* ou *E. coli* observadas em câmara foram superiores às observadas por MOITINHO et al. (1986)<sup>5</sup>, ao utilizar a centrifugação em gradientes de sacarose. A menor flutuabilidade indicada pela centrifugação em gradientes de densidade pode ser resultante de erro inerente ao método de contagem usado.

Os resultados de flutuabilidade obtidos pelo uso da câmara indicam que o limite inferior da distribuição de massas específicas de cistos de *G. duodenalis* e *E. coli* está acima de 1.040 kg/m<sup>3</sup>. Do total de cistos imersos em soluções de massa específica igual a 1.090 kg/m<sup>3</sup>, cerca de 50% flutuaram. Para efeitos práticos, pode-se dizer que cistos de *G. duodenalis* e *E. coli* flutuam quase todos em soluções de massa específica igual a 1.250 kg/m<sup>3</sup>. Nota-se, entretanto, que não foi atingido o limite de 100% de flutuação.

As soluções de massa específica igual a 1.200 kg/m<sup>3</sup> permitiram, para as duas espécies, porcentagens de flutuação de aproximadamente 90%. Estes resultados indicam ser pequena a porcentagem de cistos não recuperados quando se usa, por exemplo, a técnica de Faust et al. na pesquisa de ambas as espécies.

## SUMMARY

### Evaluation of specific gravity of *Giardia duodenalis* and *E. coli* cysts

Cysts of *Giardia duodenalis* and *Entamoeba coli* were observed as for flotability in sucrose so-

lutions of different specific gravity, contained in counting-chambers of 0.17 mm height. The cysts that floated and those that sedimented were counted and then calculated the respective percentage. Flotability differences of the cysts of each species were not considerable. Solutions of specific gravity 1,200 kg/m<sup>3</sup> made 88.49% of *G. duodenalis* cysts and 95.71% of *E. coli* cysts float. The greater values of flotability were associated to specific gravity 1,250 kg/m<sup>3</sup> and were 89.15% and 98.59% for cysts of *G. duodenalis* and *E. coli*, respectively.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DAVID, E.D. & LINDQUIST, W.D. - Determination of the specific gravity of certain helminth eggs using sucrose density gradient centrifugation. *J. Parasit.*, 68: 916-919, 1982.
- FERREIRA, C.S. & CARVALHO, M.E. - Gradientes de sacarose na separação de elementos parasitários. (Nota prévia). *Rev. paul. Med.*, 77: 205, 1971.
- MOITINHO, M.L.R. - Discriminação de ovos de helmintos em gradientes de sacarose. São Paulo, 1980. (Dissertação de mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo).
- MOITINHO, M.L.R. & FERREIRA, C.S. - Flutuabilidade de ovos de helmintos em gradientes de sacarose. I - Ovos de Ancylostomidae. *An. Farm. Quim. S. Paulo*, 24 (1-2): 15-18, 1984.
- MOITINHO, M.L.R.; FALAVIGNA, D.L.M. & DIAS, M.L.G.G. - Flutuabilidade de cistos de protozoários em gradientes de sacarose. *Ciênc. Cult. Saúde*, 7 (2): 27-30, 1986.
- SAWITZ, W.; TOBIE, J.E. & KATZ, G. - The specific gravity of hookworm eggs. *Amer. J. trop. Med.*, 19: 171-179, 1939.
- SILVA, C.R.R. - Uso de câmaras para avaliação de massa específica de ovos de helmintos. São Paulo, 1984. (Dissertação de mestrado - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo).

Recebido para publicação em 3/2/1992  
Aceito para publicação em 9/6/1992