

AVALIAÇÃO DE TÉCNICA DE SEDIMENTAÇÃO EM TUBOS

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

RESUMO

O rendimento de sedimentação em tubos, aplicada à pesquisa de ovos de *Ancylostomidae*, *Trichuris trichura* e *Ascaris lumbricoides* foi estudado em suspensões fecais diluídas a 2,0%; 1,5% e 1,0% em colunas de 80 mm de altura. De cada um dos helmintos citados, as amostras continham quantidades correspondentes a 12,5; 25,0; 50,0; 100,0; 150,0 e 200,0 ovos por grama de fezes (opg). Avaliou-se o rendimento do processo em termos de freqüências de resultados positivos e de contagens de ovos por lâmina de sedimento (0,078 ml). Ambos aumentaram com os valores de opg. As várias diluições não influíram nos graus de positividade ou nas contagens de ovos por lâmina de sedimento. Os sedimentos de suspensões fecais diluídas a 1,0% (quando o valor de opg era de 150,0). Em trabalho rotineiro é desnecessária a determinação instrumental das quantidades de fezes usadas nas suspensões. Diluições em torno de 1,0% representam um compromisso entre bom rendimento e limpeza dos esfregaços, especialmente quando os valores de opg forem baixos.

UNITERMOS: Sedimentação em tubos; Técnicas de sedimentação; Coroscopia parasitológica; Ovos de helmintos.

INTRODUÇÃO

A técnica de LUTZ ⁶, também conhecida como técnica de HOFFMAN; PONS & JANER ⁵, é amplamente usada na pesquisa de elementos parasitários nas fezes. Tem, como vantagens, amplo espectro de utilização e baixo custo. É, por vezes, a única adotada em laboratórios de saúde pública com poucos recursos e grande demanda de pesquisas de helmintos e protozoários em amostras fecais. Sua execução inclui as operações: diluição de amostras de fezes em água, tamisagem, sedimentação das suspensões em cálices cônicos e retirada de amostras do sedimento.

Parâmetros como altura da coluna líquida, tempos de sedimentação e concentração das suspensões são em

geral inadequadamente definidos nas prescrições para a realização dessa técnica. Intuitivamente é admitido que, quanto maior a quantidade de fezes transferidas para cada recipiente onde se dá a sedimentação, tanto maior a probabilidade de resultados positivos. Variações de diluição das suspensões fecais acompanham as de viscosidade e de turbidez dos sedimentos. Ambas influem na eficiência das técnicas de sedimentação.

De acordo com suas velocidades de queda, os elementos particulados depositam-se, durante a sedimentação, em camadas diferentes. Assim, não é esperado que os parasitas se encontrem distribuídos de modo equi-provável no sedimento a ser examinado. Retirada de

(1) Maria da Luz Ribeiro Moitinho: Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.

(2) Cláudio Santos Ferreira: Departamento de Parasitologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Endereço para correspondência: Cláudio Santos Ferreira - Departamento de Parasitologia, Edifício Biomédicas II, Universidade de São Paulo, Cidade Universitária CEP: 05508-900 - São Paulo, SP, Brasil.

aliquota do sedimento sem prévia homogeneização resulta em amostra não representativa do material.

São evidentes as desvantagens dos cálices de sedimentação: custo elevado, manuseio difícil e grande demanda de espaço na bancada do laboratório. Por estes motivos, a sedimentação em tubos tende a tornar-se rotineira em parasitologia clínica. Estudos recentes contribuem para reafirmar as observações iniciais de FERREIRA apud AMATO NETO et al. ¹, 1962. Por exemplo, DIAS et al. ³, em 1989 e TURRIN & MADEIRA ⁹, em 1990 compararam resultados de sedimentação em tubos com os de processos tradicionais. Reconheceram a eficiência e a praticabilidade deste último, opinião compartilhada por MOITINHO & FERREIRA ⁷, 1992.

Admitidas as vantagens da sedimentação em tubos, torna-se necessário determinar, experimentalmente, os valores de diluição das suspensões que representam o melhor compromisso entre probabilidade de encontro e facilidade de identificação dos parasitas. Em outras palavras, procura-se aumentar a eficiência do processo de recuperação dos parasitas sem aumento correspondente da turbidez dos esfregaços.

Este trabalho visou a verificar sensibilidade da técnica de helmintos parasitas. Usam-se colunas de 80 mm de altura, diluições fecais definidas e valores conhecidos

de opg. Para exame, foi sempre retirado volume conhecido de sedimento homogenizado. Frequências de resultados positivos e vantagens de ovos por Lâmina de sedimento (0,078 ml) serviram para avaliar a técnica. As amostras positivas continham, de cada um dos helmintos: *Acylostomidae*, *Trichuris trichiura* e *Ascaris lumbricoides*, 12,5; 25,0; 50,0; 100,0; 150,0 e 200 ovos por grama de fezes (opg) em preparações diluídas a 1,0%; e 1,5% e 2,0%.

MATERIAL E MÉTODOS

Suspensões fecais:

As amostras fecais provieram do Laboratório de Parasitologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá, onde se adotam as técnicas de Hoffman, Pons & Janer e de Faust et al. Dos materiais positivos para *Ancylostomidae*, *Trichuris trichiura* ou *Ascaris lumbricoides* foram feitas suspensões a 2,0% (p/v), para contagens de ovos em câmaras sem retículo 8 de 15 x 18 x 0,17 mm. As estimativas de opg, feitas em cada suspensão, basearam-se em cinco destas contagens. Foram também preparadas suspensões, diluídas a 2,0%, de fezes negativas à parasitoscopia. Suspensões fecais à mesma diluição, correspondentes a 12,5; 25,0; 50,0; 100,0; 150,0 e 200,0 opg, foram obtidas por meio de mistura de suspensões

TABELA 1

Sedimentação de suspensões fecais em tubos: amostras com diferentes valores de ovos por grama (opg) e diferentes diluições. Frequências de positividade e valores médios de contagens de ovos por lâmina de sedimento.

| Parasitas | opg | Positividade percentual | | | Ovos por lâmina | | |
|-----------------------------|-------|-------------------------|------------------|-------|-----------------|------------------|------|
| | | 1,0% | Diluição 1,5% | 2,0% | 1,0% | Diluição 1,5% | 2,0% |
| <i>Ancylostomidae</i> | 12,5 | 6,7 | 13,3 | 6,7 | 0,07 | 0,13 | 0,07 |
| | 25,0 | 23,3 | 20,0 | 6,7 | 0,30 | 0,20 | 0,10 |
| | 50,0 | 50,0 | 30,0 | 40,0 | 0,50 | 0,35 | 0,40 |
| | 100,0 | 80,0 | 70,0 | 65,0 | 1,35 | 1,30 | 1,40 |
| | 150,0 | 85,0 | 80,0 | 60,0 | 1,40 | 1,30 | 1,10 |
| | 200,0 | 90,0 | 85,0 | 80,0 | 2,10 | 1,45 | 1,90 |
| <i>Trichuris trichiura</i> | 12,5 | 14,8 | 3,7 | 11,1 | 0,15 | 0,04 | 0,18 |
| | 25,0 | 25,9 | 11,1 | 33,3 | 0,33 | 0,11 | 0,41 |
| | 50,0 | 40,0 | 20,0 | 40,0 | 0,55 | 0,20 | 0,45 |
| | 100,0 | 60,0 | 40,0 | 35,0 | 0,90 | 0,55 | 0,40 |
| | 150,0 | 0,80 | 90,0 | 65,0 | 1,25 | 1,40 | 1,20 |
| | 200,0 | 85,0 | 75,0 | 100,0 | 2,35 | 1,30 | 2,25 |
| <i>Ascaris lumbricoides</i> | 12,5 | 10,0 | 20,0 | 26,7 | 0,13 | 0,27 | 0,27 |
| | 25,0 | 23,3 | 16,7 | 23,3 | 0,30 | 0,23 | 0,27 |
| | 50,0 | 50,0 | 90,0 | 60,0 | 0,55 | 1,50 | 1,00 |
| | 100,0 | 85,0 | 85,0 | 85,0 | 1,30 | 1,85 | 2,40 |
| | 150,0 | 95,0 | 100,0 | 95,0 | 2,30 | 3,15 | 3,35 |
| | 200,0 | 100,0 | 100,0 | 95,0 | 4,25 | 3,65 | 3,75 |

de fezes positivas e negativas. Aliquotas de cada uma destas foram ulteriormente diluídas em água para obter suspensões a 1,5 e 1,0%.

Sedimentação em tubos:

Usaram-se: a) as suspensões iniciais a 2,0%; b) suspensões diluídas a 1,5% e a 1,0%. A sedimentação se processou durante uma hora, em colunas de 80 mm de altura (volume igual a 11 ml) contidas em tubos de ensaio de 100 mm de altura por 15 mm de diâmetro. Terminada a sedimentação, retiravam-se os sobrenadantes por sucção, permanecendo em cada tubo uma coluna de 5 mm de altura (volume igual a 0,6 ml). Após homogeneização, retirava-se uma gota do sedimento, (volume igual a 0,078 ml), para depositá-la sobre lâmina de microscopia. Contavam-se os ovos de helmintos observados sob lâmina de 22 x 22 mm.

Para cada helminto e cada diluição, foram sedimentadas 30 suspensões das amostras fecais com estimativas de opg correspondentes a 12,5 e 25,0. Dasquelas com estimativas de opg entre 50,0 e 200,0 opg, inclusive, por ser obviamente maior o número esperado de ovos por preparação, foram sedimentadas 20 suspensões de cada diluição fecal e cada parasita.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 encontram-se os dados de percentagens de exames positivos e de contagens de ovos por lâmina de sedimento. As variáveis independentes são valores de opg das amostras fecais e diluições das suspensões. As percentagens de exames positivos aumentaram com os valores de opg. Entretanto, as proporções de resultados positivos não se mostraram dependentes das diluições. As contagens de ovos por lâmina também acompanharam os valores de opg, mas os números de ovos por lâmina, dentro dos limites do experimento, não mostraram, inequivocamente, depender da diluição das suspensões.

É confirmada a hipótese segundo a qual, dentro dos limites toleráveis na prática, elevação da concentração das suspensões a sedimentar não aumenta a positividade dos exames ou o número de ovos de helmintos encontrados por lâmina de sedimento. Suspensões mais concentradas tendem a produzir maior proporção de detritos, dificultando a identificação dos parasitas.

Para o valor de 150,0 opg, os sedimentos das suspensões diluídas a 1,0% mostraram-se positivos em

80,0% ou mais dos casos. De acordo com os dados da literatura^{2,4}, os números de ovos por grama de fezes produzidos por uma fêmea de *Ancylostoma duodenale*, de *Necator americanus*, de *T. trichiura* e de *A. lumbricoides* são, respectivamente, cerca de 125, 50, 75 e 2 000. Aceitando estas estimativas, conclui-se que uma infecção por duas fêmeas de *N. americanus* ou de *T. trichiura* tornaria provavelmente positivo um exame coproscópico realizado com suspensões fecais 1,0%, segundo a técnica descrita. Ovos de *A. duodenale* e *A. lumbricoides* seriam revelados mesmo que a infecção fosse produzida por apenas uma fêmea destas espécies.

O uso de suspensões a 1,0% é recomendável. Além de permitir a recuperação de números de ovos comparáveis aos resultantes do uso de concentrações mais elevadas, produz preparações mais limpidas do que aquelas. É desnecessário acentuar a grande variação da composição das fezes humanas quanto a bactérias e detritos alimentares. Os resultados experimentais descritos são válidos apenas para grandes conjuntos.

A realização de exames rotineiros não exige a determinação rigorosa de pesos ou volumes de amostras fecais, necessária durante a aferição de uma técnica. Avaliação visual da quantidade de fezes retirada com a ponta de uma espátula é suficiente. Os dados fornecidos por este trabalho indicam certa independência entre positividade dos exames e concentração das suspensões. É, entretanto, conveniente treinar o pessoal técnico para que sejam usadas, na sedimentação, suspensões a aproximadamente 1,0% que, por sua limidez, permitem exames rápidos sem perda de rendimento em termos de positividade ou número de esperado de ovos por lâmina. Considera-se a técnica descrita suficientemente sensível para uso em rotina de diagnóstico de helmintoses intestinais.

SUMMARY

Evaluation of a Technique of fecal sedimentation in test tubes

The efficiency of sedimentation in test tubes for the detection of eggs of *Ancylostomidae*, *Trichuris trichiura* and *Ascaris lumbricoides* was tested in 80 mm-high columns of fecal suspensions. Dilutions of 2.0%, 1.5% and 1.0% were tested by using samples containing, respectively, 12.5, 25.0, 50.0, 100.0, 150.0 and 200.0 eggs per gram (epg) of each helminth under study. Efficiency was evaluated in terms of frequency of positive results

and eggs per slide of the sediment (0.078 ml). Both the frequencies of positive results and egg counts per slide increased with epg values, but were not apparently dependent from suspension dilutions within the range assessed. Sediments of 1.0% fecal suspensions were positive in 80.0% or more of the cases for epg values of 150.0. It is inferred that dilution values are not critical. Thus, it is not necessary to determine fecal weights or volumes instrumentally. Considering overall results, it may be concluded that 1.0% fecal dilutions should be recommended for best results both in terms transparency of the preparations and chances of recovering eggs, particularly when egg counts are low.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMATONETO, V.; CAMPOS, R. & FERREIRA, C. S. - *Diagnóstico de parasitoses intestinais pelo exame de fezes*. 3. ed. São Paulo, Artes Médicas, 1968. p. 87-93.
2. CARNERI, I. - *Parassitologia Generale e Umana*. 8. ed., Milano, Ambrosiana, 1983. p. 339.
3. DIAS, R. M. D. S.; SILVA, M. I. P. G.; NUNES, L. R. et al. - Avaliação dos resultados obtidos pelo método de sedimentação espontânea em cálice e em tudo afinado, no exame parasitológico de fezes. *LAES/HAES*, 60: 46-48, 1989.
4. GOLVAN, Y. J. - Coprologia Parasitária. In: GOLVAN, Y. J.; PETITHORY, J. C.; DROUCHET, E.; SEGRETAIN, G. & MARIAT, F. - *Exámenes de Laboratorio: Técnicas en parasitología, Técnicas en Micología*. Barcelona, Editorial Jims, 1977. p. 32.
5. HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A. & JANER, J. L. - The sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. *Puerto Rico J. publ. Hlth.*, 9: 283-291, 1934.
6. LUTZ, A. - O schistosomum mansoni e a schistosomose, segundo observações feitas no Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 11: 121-155, 1919.
7. MOITINHO, M. L. R. & FERREIRA, C. S. - Sedimentation in parasitological coproscopy. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 34: 255-258, 1992.
8. MOITINHO, M. L. R. & FERREIRA, C. S. - Avaliação de massas específicas de cistos de Giardia duodenalis e Entamoeba coli. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 34: 395-397, 1992.
9. TURRIN, I. & MADEIRA, M. F. - Estudo comparativo dos métodos de Ritchie e Hoffman pelo sistema convencional e Parasitokit. *LAES/HAES*, 64: 34-36, 1990.

Recebido para publicação em 29/06/1993.
Aceito para publicação em 27/01/1994.