



Preservação de ovos de helmintos e cistos de protozoários em iodo-mercurato de potássio. Revisitando experimentos realizados há cerca de 40 anos

Preservation of helminth eggs and protozoan cysts in potassium iodine-mercurate. Revisiting experiments carried out about 40 years ago

RIALA6/1788

Sansão da Rocha WESTPHALEN¹, Thiago Kury Moreno de SOUZA¹, Pedro Luiz Silva PINTO², José Eduardo TOLEZANO¹

*Endereço para correspondência: ¹Núcleo de Parasitoses Sistêmicas, Centro de Parasitologia e Micologia, Instituto Adolfo Lutz. Av Dr. Arnaldo, 351, 8º andar, São Paulo, SP, Brasil, CEP: 01246-000. Tel: 11 3068 2891. E-mail: parasitosesistemicas@ial.sp.gov.br

²Núcleo de Enteroparasitas, Centro de Parasitologia e Micologia, Instituto Adolfo Lutz

Recebido: 10.03.2020 - Aceito para publicação: 26.08.2020

RESUMO

Foi realizada reavaliação sobre o estado de preservação de ovos de helmintos e cistos de protozoários mantidos por cerca de 40 anos em solução de iodo-mercurato de potássio a 0,2%. Foi observado que ovos de *Schistosoma mansoni*, Ancylostomidae e *Trichuris trichiura* e oocistos de *Isospora belli* mantiveram-se em condições adequadas para a sua identificação ao microscópio ótico comum. No material examinado, foi possível verificar a presença de miracídio em ovo de *Schistosoma mansoni*, forma larvada em ovo de *T. trichiura* e esporozoitos em oocistos de *I. belli*.

Palavras-chave. armazenamento de substâncias, produtos e materiais, compostos de mercúrio, helmintos, oocistos.

ABSTRACT

A reassessment was carried out on the preservation status of helminth eggs and protozoan cysts maintained for about 40 years in 0.2% potassium iodine-mercurate solution. It was observed that *Schistosoma mansoni*, Ancylostomidae and *Trichuris trichiura* eggs and *Isospora belli* oocysts were kept in conditions suitable for their identification under a common light microscope. In the examined material, it was possible to verify the presence of miracidium in *S. mansoni* egg, larvae in *T. trichiura* egg and sporozoites in *I. belli* oocysts.

Keywords. storage of substances, products and materials, mercury compounds, helminths, oocysts.

Em 1981, Aguiar et al¹ publicaram os resultados sobre a avaliação do bi-iodeto de mercúrio como preservativo de material biológico de interesse em Parasitologia. Tais resultados foram obtidos a partir de experimentos realizados em 1980, com objetivo de selecionar uma formulação capaz de conservar protozoários e helmintos (ovos e exemplares adultos). A preservação de amostras biológicas para o estudo de parasitos, por meio de preparações contendo compostos de mercúrio, é antiga e foi muito empregada, no passado, por diferentes pesquisadores²⁻⁴. Baseados em tais trabalhos, Aguiar et al¹ elaboraram solução de iodo-mercurato de potássio nas formulações a 0,2% com formol - descrita abaixo e a 0,1% com benzeno e procederam à análise periódica de sedimentos de amostras de fezes, tratados com ambas as preparações em momentos distintos, para avaliarem o potencial preservativo em comparação às soluções controle de Railliet-Henry⁵, MIF⁶ e Schaudinn², num período de seis meses. Decorrido este intervalo de tempo, os autores concluíram que a formulação a 0,2% com formol apresentou o melhor desempenho conservativo das estruturas dos parasitos, incluindo cistos, oocistos e trofozoítos de protozoários e ovos e exemplares adultos de helmintos. A exceção foi verificada para ovos de *Hymenolepis nana* e *H. diminuta*¹, em que a preparação que respondeu, adequadamente, foi a de 0,1% com benzeno. Entretanto, tal solução não demonstrou eficiência à conservação de cistos, oocistos e trofozoítos de protozoários.

Solução de iodo-mercurato de potássio a 0,2% (Aguiar et al)¹:

Bi-iodeto de mercúrio	2 g
Iodeto de potássio	2 g
Formol a 40%	5 mL
Álcool a 99,5°GL	500 mL
Solução fisiológica a 0,85% q.s.p	1000 mL

Nesta revisita ao trabalho original e levando-se em consideração as restrições atuais quanto à utilização de compostos de mercúrio, devido à elevada toxicidade deste elemento químico e de suas

¹ Na publicação original¹, não há explanações sobre os possíveis fatores relacionados à não conservação dos ovos de *H. nana* e *H. diminuta* pela solução de iodo-mercurato de potássio a 0,2% com formol.

implicações nas esferas de saúde, segurança e meio ambiente, foram examinadas alíquotas das amostras de fezes preservadas, que estavam depositadas em coleção parasitológica do Centro de Parasitologia e Micologia do Instituto Adolfo Lutz (**Figura 1**). Durante todo o período de conservação, o material foi mantido em temperatura ambiente. Suas alíquotas foram recolhidas, centrifugadas, examinadas e, também, mantidas em temperatura ambiente.



Figura 1. Tubos de ensaio contendo material biológico preservado, por cerca de quatro décadas, em solução de iodo-mercurato de potássio

A observação microscópica, processada em microscópio óptico comum, revelou a presença de ovos de *S. mansoni*, Ancylostomidae e *T. trichiura*, além de oocisto de *I. belli*, todos em estado de preservação adequado para sua correta identificação (**Figura 2**). Na publicação original de 1981, Aguiar et al¹ registraram que o conservante empregado apresentava propriedade de não aglutinar partículas. Esta característica permaneceu presente após um intervalo de, aproximadamente, quatro décadas de conservação das amostras. Em relação ao estado de manutenção das estruturas dos parasitos, destaca-se a presença de miracídio em ovo de *S. mansoni*, larva no interior de ovo de *T. trichiura* e esporozoítos em oocistos de *I. belli* (**Figura 2**).

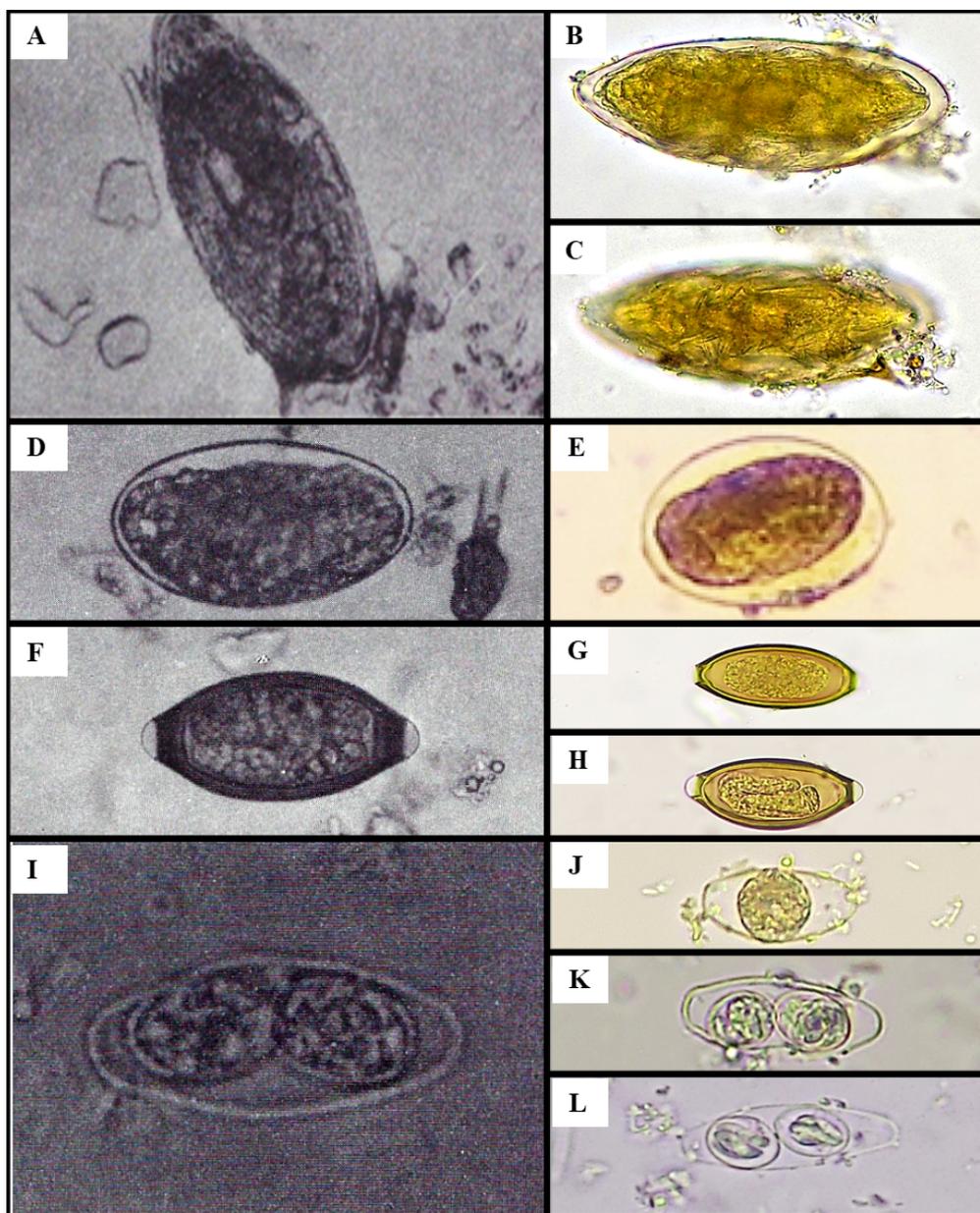


Figura 2. Ovos de helmintos e oocistos de *I. belli*, provenientes de material biológico preservado em solução de iodo-mercurato de potássio a 0,2% e visualizados em diferentes épocas. **A:** Ovo de *S. mansoni* em 1981, após seis meses de conservação; **B e C:** Ovos de *S. mansoni* em 2018, cerca de quatro décadas de preservação; **D:** Ovo de Ancylostomidae em 1981, após seis meses de conservação; **E:** Ovo de Ancylostomidae em 2018, cerca de quatro décadas de preservação; **F:** Ovo de *T. trichiura* em 1981, após seis meses de conservação; **G e H:** Ovos de *T. trichiura* em 2018, cerca de quatro décadas de preservação; **I:** Oocisto de *I. belli* em 1981, após seis meses de conservação; **J, K e L:** Oocistos de *I. belli* em 2018, cerca de quatro décadas de preservação

Diante do constatado potencial conservativo do iodo-mercurato de potássio, a partir da metodologia empregada, verifica-se a possibilidade de sua aplicação em propósitos científicos e acadêmicos, relacionados à pesquisa e ao âmbito didático, respectivamente. Neste contexto, esta preparação permitiria a criação de uma grande

biblioteca de amostras biológicas preservadas, com vistas à produção de diferentes e numerosos estudos, ao longo do tempo.

Apesar das referidas restrições ao uso de compostos de mercúrio, na atualidade, seriam válidas avaliações e discussões quanto às possibilidades de seu emprego para um número

restrito de experimentos. No que diz respeito ao iodo-mercurato de potássio, pesam ao seu favor as questões da aplicabilidade, acima descrita, e da utilização de um baixo quantitativo de bi-iodeto de mercúrio no preparo da solução. Entretanto, é importante salientar que tal insumo, por conter mercúrio em sua composição, mesmo que a baixas concentrações, apresenta toxicidade e pode causar uma série de doenças e agravos à saúde e danos ambientais. Segundo a Organização Mundial da Saúde⁷, o mercúrio está entre os dez produtos químicos associados a importantes problemas de saúde pública. A exposição a este metal pesado, decorrente de inalação, ingestão e contato com a pele e os olhos, pode ser prejudicial aos sistemas: digestivo; imunológico; nervoso, com a ocorrência de transtornos neurológicos envolvendo tremores, insônia, perda de memória, efeitos neuromusculares, cefaleia e disfunções cognitivas e motoras; respiratório e urinário. Neste último caso, as complicações causadas, nos rins, podem ocasionar quadros que variam de proteinúria à insuficiência renal, dependendo da dose e do tempo de exposição pelos quais o indivíduo foi submetido⁷.

Deste modo, se faz imprescindível a obediência das normas de biossegurança quando do manuseio, do armazenamento, do processamento e do descarte de produtos compostos por mercúrio. Neste âmbito, as medidas comumente adotadas são: uso de equipamentos de proteção individual (EPIs) - avental, luvas, máscaras e óculos de proteção; manipulação dos materiais em exaustor ou capela; armazenamento dos insumos em recipientes hermeticamente fechados e em local seco e fresco, devendo estar distante de substâncias incompatíveis e separado de alimentos e medicamentos; descarte dos resíduos químicos em embalagens padronizadas e identificadas e seu posterior encaminhamento a empresas de deposição de resíduos, licenciadas por órgãos ambientais locais, para o seu devido fim⁸.

Por último, esta nota científica acena para a importância de visitar experimentos do passado e ratificar seus resultados décadas após a sua realização. Isto valoriza os estudos originais e as suas observações, além da possibilidade de agregar novos achados a eles. No caso aqui descrito, verificou-se

o potencial conservativo do iodo-mercurato de potássio em um período superior ao avaliado e determinado pelo trabalho original: enquanto que, no passado, a eficácia da solução foi comprovada após seis meses de preservação do material biológico testado, a análise atual revelou que, decorridos cerca de quarenta anos da elaboração do experimento, sua capacidade preservativa permanece eficiente.

REFERÊNCIAS

1. Aguiar PR, Ventura VR, Burkart IHV, Nascimento JA, Lima IAR, Westphalen SR. Avaliação do biiodeto de mercúrio como preservativo de material biológico. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 1981; 41(1):47-52. Disponível em: http://www.ial.sp.gov.br/resources/insituto-adolfo-lutz/publicacoes/rial/80/rial_41_1_1981/h522.pdf
2. Meyer KF, Johnstone HG. Laboratory Diagnosis of Amebiasis. *Am J Public Health Nations Health*. 1935; 25(4):405-14. <http://dx.doi.org/10.2105/ajph.25.4.405>
3. Coutinho JO. Notas sobre modificações do “MIFC” na conservação de fezes para pesquisa de cistos de protozoários. *Arq Fac Hig Saúde Púv Univ São Paulo*. 1956; 10(1/2):65-70.
4. Junod C. Technique coprologique nouvelle essentiellement destinée a la concentration des trophozoites d'amibes. *Bull Soc Pathol Exot*. 1972; 65(3):390-8.
5. Amato Neto V, Corrêa LL. Exame parasitológico de fezes. 4.ed. São Paulo (SP): Sarvier; 1980.
6. Saperó JJ, Lawless DK. The MIF stain-preservation technic for the identification of intestinal protozoa. *Am J Trop Med Hyg*. 1953; 2(4):613-9. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.1953.2.613>
7. Organização Mundial da Saúde - OMS. El mercurio y la salud. [acesso 2020 Ago 15]. Disponível em: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/mercury-and-health>
8. Organização Mundial da Saúde. Manual de segurança biológica em laboratório. 3.ed. Genebra; 2004. Disponível em: <https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/BisLabManual3rdwebport.pdf>