

## FREQÜÊNCIA DE AMEBAS DE VIDA LIVRE EM FEZES DE INDIVÍDUOS DE UMA CRECHE DA CIDADE DE SÃO PAULO \*

Sylvia Amaral Gurgel VELLOSA \*\*  
Ana Célia Steffen MANGINI \*\*  
Lucília dos Reis NUNES \*\*  
Antonella Godano SCHLODTMANN \*\*

RIALA6/574

VELLOSA, S. A. G.; MANGINI, A. C. S.; NUNES, L. R. & SCHLODTMANN, A. G. — Freqüência de amebas de vida livre em fezes de indivíduos de uma creche da cidade de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44:61-65, 1984.

**RESUMO:** A ocorrência de amebas de vida livre foi pesquisada em 90 amostras de fezes de indivíduos pertencentes a uma creche da cidade de São Paulo. As amostras foram semeadas em placas de Petri contendo ágar não nutriente, ou ágar não nutriente — sal, com um tapete de *Enterobacter aerogenes*, morto pelo calor. As placas foram incubadas a temperaturas de 28, 37 e 40 °C, e observadas diariamente durante sete dias. A positividade foi de 22,71% em 66 crianças, e de 8,33% em 24 adultos. Foram isoladas 21 amostras do gênero *Acanthamoeba*, 4 de *Naegleria*, 1 de *Echinamoeba*, e 12 de amebídeos não identificados. Foram examinadas mais 3 amostras fecais de cada indivíduo com exame positivo, com intervalo de um mês entre as coletas. Amostras de *Acanthamoeba* sp. foram reisoladas em dois indivíduos, o que nos leva a supor que amebídeos estavam sendo por eles albergados, e não em simples trânsito intestinal.

**DESCRIPTORIOS:** amebas de vida livre em fezes humanas, freqüência: *Acanthamoeba*, sp.; *Naegleria* sp.

### INTRODUÇÃO

Desde o final do século passado, vários autores constataram a presença de amebas de vida livre em fezes humanas. Assim, na revisão bibliográfica de WILLAERT<sup>12</sup>, encontramos menção ao encontro de *Naegleria gruberi* em fezes humanas diarréicas em estudo de Schardinger, em 1899. Mais recentemente, JADIM *et alii*<sup>3</sup> (1973) e GRIFFIN<sup>2</sup> (1978) isolaram *Acanthamoeba* sp. em amostras de fezes, na maioria pertencentes a crianças com diarreia.

No Brasil, PINTO<sup>9</sup> (1922) descreve o encontro de amebas, provavelmente do gênero *Naegleria*, em fezes humanas diarréicas. PESSÓA & MARTINS<sup>8</sup>, em 1978, faz referência ao encontro de *Acanthamoeba* sp. em

fezes e urina humanas. MOURA *et alii*<sup>5</sup> (1983), cultivando fezes de 106 indivíduos residentes em uma comunidade fechada, encontraram 15 (14%) casos positivos para amebas de vida livre, tendo sido isolados representantes dos gêneros *Acanthamoeba*, *Hartmanella* e *Vahlkampfia*. MOURA *et alii*<sup>6</sup> (1983), a partir de 514 amostras de fezes de pacientes do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual do Rio de Janeiro, encontraram 55 (10,7%) casos positivos para amebas de vida livre, tendo sido isoladas 55 amostras de *Acanthamoeba*, 3 de *Vahlkampfia* e 1 de *Echinamoeba*.

Nosso objetivo foi o de pesquisar a ocorrência de amebas de vida livre em fezes de indivíduos pertencentes a uma creche da cidade de São Paulo.

\* Realizado no Serviço de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

## MATERIAL E MÉTODOS

No período março/abril de 1983, foram examinadas amostras de fezes de todos os indivíduos pertencentes a uma creche da cidade de São Paulo. Faziam parte desta instituição 90 pessoas: 66 crianças de até seis anos de idade, e 24 adultos. Dos indivíduos que apresentaram resultado positivo no cultivo de amebas de vida livre foram colhidas mais 3 amostras, com intervalo de um mês entre as coletas. Ao todo, foram examinadas 119 amostras, sendo 92 pertencentes a crianças e 26 a adultos.

As fezes foram mantidas à temperatura ambiente e processadas até 24 horas após a colheita.

Aproximadamente 10 g de fezes foram homogeneizadas em água destilada, estéril, até adquirirem consistência semipastosa. Este material foi semeado no centro de três placas de Petri contendo meio de ágar não nutriente a 1,5%, em água destilada, recoberto com tapete de *Enterobacter aerogenes* morto pelo calor (ANNE) e em uma placa contendo meio de ANNE — sal. As placas de ANNE foram incubadas a temperaturas de 28, 37 e 40 °C, e a de ANNE — sal, a 37 °C, por um período de 7 dias. No preparo do meio ANNE — sal, foi substituída a água destilada, utilizada no meio anterior, por salina a 0,85%. A suspensão de *E. aerogenes*, preconizada por SING<sup>10</sup>, foi preparada seguindo-se a técnica descrita por ANDERSON & JAMIESON<sup>1</sup>. A turvação da suspensão foi igual à do tubo n.º 7 da escala de Mac Farland<sup>4</sup>.

Diariamente procedeu-se à observação direta das placas, com auxílio de microscópio invertido, com aumento de 130 vezes. Pequenos

nos fragmentos de ágar das placas positivas, retirados de pontos distantes do local da semeadura, foram transferidos para outras placas, com o intuito de se obter clonagem das amebas. Para identificação das amebas clonadas foi adotado o critério de PAGE<sup>7</sup>.

## RESULTADOS

O cultivo de fezes foi positivo em 15 crianças e em 2 adultos. Os resultados obtidos nas culturas de fezes estão contidos na tabela 1. A tabela 2 apresenta a distribuição dos diferentes amebídeos isolados nos meios de ANNE, e ANNE — sal, assim como as respectivas temperaturas de incubação. Dos 17 indivíduos que apresentaram resultados positivos foram colhidas mais 29 amostras. Destas, 9 também se mostraram positivas, nem sempre para as mesmas amebas isoladas na primeira colheita, conforme se observa na tabela 3.

TABELA 1

*Resultados das culturas de fezes para amebas de vida livre em crianças e adultos*

Cultura de fezes	Crianças	Adultos
Positiva	15 (22,71%)	2 (8,33%)
Negativa	51 (77,29%)	22 (91,67%)
Total	66 (100%)	24 (100%)

$$\chi^2 = 1,53 \text{ (valor crítico} = 3,8)$$

TABELA 2

*Distribuição dos amebídeos isolados, segundo temperatura de incubação e meio empregado\**

Gênero	Temperatura e meio	37 °C		Total	
		28 °C	ANNE		ANNE-sal
<i>Acanthamoeba</i>		12	4	5	21
<i>Naegleria</i>		2	1	1	4
<i>Echinamoeba</i>		1	—	—	1
Amebídeos não identificados		9	2	1	12
Total		24	7	7	38

\* Não houve crescimento no meio ANNE incubado a 40 °C.

(—) Não houve crescimento

TABELA 3

*Isolamento de amebas de vida livre, segundo a amostra cultivada*

Indivíduo n.º	Identificação *		
	1.ª amostra	2.ª amostra	3.ª amostra
1	<i>Acanthamoeba</i> sp.	cultura negativa	—
2	<i>Acanthamoeba</i> sp.	N.I.	cultura negativa
3 **	<i>Acanthamoeba</i> sp.	cultura negativa	<i>Acanthamoeba</i> sp.
4	N.I.	<i>Acanthamoeba</i> sp. <i>Naegleria</i> sp.	cultura negativa
8	N.I.	<i>Acanthamoeba</i> sp.	cultura negativa
16	<i>Acanthamoeba</i> sp. N.I.	<i>Echinamoeba</i> sp.	N.I.
18	<i>Acanthamoeba</i> sp.	cultura negativa	<i>Acanthamoeba</i> sp.
28	<i>Acanthamoeba</i> sp.	cultura negativa	—
36	N.I.	cultura negativa	—
56	<i>Acanthamoeba</i> sp.	cultura negativa	cultura negativa
59	N.I.	cultura negativa	—
68	N.I.	cultura negativa	N.I.
78	<i>Acanthamoeba</i> sp. N.I.	cultura negativa	N.I.
80	<i>Acanthamoeba</i> sp.	cultura negativa	—
83	<i>Naegleria</i> sp.	cultura negativa	—
88	<i>Acanthamoeba</i> sp.	cultura negativa	cultura negativa
90	N.I.	cultura negativa	—

\* Não houve crescimento na 4.ª amostra.

N.I. Amebídeos não identificados.

\*\* Amebas isoladas em diferentes temperaturas (1.ª amostra a 28 °C e 3.ª amostra a 37 °C).

(—) Cultura não realizada.

## DISCUSSÃO

Verificou-se que 22,71% das crianças e 8,33% dos adultos apresentavam amebídeos de vida livre nas fezes. Empregando-se o teste de  $\chi^2$ , com correção de continuidade, a diferença de ocorrência encontrada entre crianças e adultos resulta não significativa.

Das fezes de dois indivíduos foram isoladas *Acanthamoeba* sp. nas 1.ª e 3.ª amostras colhidas com mais de 30 dias de intervalo.

MOURA *et alii*<sup>5</sup> sugerem que o encontro repetido de amebas de vida livre em fezes pode indicar eventual colonização do tubo digestivo ou do trato respiratório superior, por esses amebídeos, e não apenas simples passagem pelo trato digestivo. Segundo VIVESVARA<sup>11</sup>, infecções inaparentes por *Acanthamoeba* sp. podem existir na natureza. A presença de anticorpos específicos foi demonstrada em pacientes com distúrbios das vias aéreas superiores, ou gastrintestinais por Eldridge & Tobim, em 1967, e por Kenney,

em 1971, ainda segundo citação de VIVES-VARA<sup>11</sup>.

No isolamento das amebas, a temperatura de incubação de 28 °C, em meio ANNE, mostrou-se mais eficiente do que a de 37 °C. A 40 °C não foi verificado o crescimento de nenhuma amostra (tab. 2).

Foram isoladas 21 amostras do gênero *Acanthamoeba*, 2 do gênero *Naegleria*, 1 de *Echinamoeba*, e 12 de amebídeos não identificados, de 17 indivíduos cujas fezes foram examinadas, conforme mostra a tabela 3. Nas

12 amostras em que não foi possível identificar o gênero das amebas isoladas, conseguiu-se, todavia, descartar a presença de *Acanthamoeba* sp. e de *Naegleria* sp.

Entre os amebídeos isolados, *Acanthamoeba* sp. e *Naegleria* sp. representam os gêneros de maior interesse epidemiológico, por serem potencialmente patogênicos para o homem, segundo o estado atual dos conhecimentos vigentes sobre os amebídeos de vida livre.

O estudo da patogenicidade das amostras de *Acanthamoeba* sp. será objeto de outra publicação.

RIALA6/574

VELLOSA, S. A. G.; MANGINI, A. C. S.; NUNES, L. R. & SCHLODTMANN, A. G. — Frequency of free-living amebas in the feces of persons from a nursery in São Paulo City. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):61-65, 1984.

ABSTRACT: The occurrence of free-living amebas was searched for in 90 feces from persons belonging to a nursery from São Paulo City. The specimens were inoculated on Petri dishes with non-nutrient agar (ANNE) or non-nutrient agar with saline coated with heat-killed *Enterobacter aerogenes*. Plates were incubated at 28, 37 and 40 °C and observed daily for 7 days. Growth was obtained in 22.71% of stools from 66 infants and in 8.33% of stools from 24 adults. Isolates included 21 strains of *Acanthamoeba* sp., 4 strains of *Naegleria* sp. and 1 strain of *Echinamoeba* sp. and 12 amebids which were not identified. Three additional feces were tested in each positive individual at monthly intervals between feces specimens. Strains of *Acanthamoeba* sp. were reisolated from two individuals, this suggesting that these amebids were actually harbored and not in simple transit through the intestine.

DESCRIPTORS: free-living amebas in feces, frequency; *Acanthamoeba* sp.; *Naegleria* sp.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSON, K. & JAMIESON, A. — Bacterial suspensions for the growth of *Naegleria* species. *Pathology*, 6:79-84, 1974.
2. GRIFFIN, J. L. — Pathogenic free-living amoebae. In: KREIER, J. P., ed. — *Parasitic protozoa*. v. II: *Intestinal flagellates, histomonads, trichomonads, amoeba, opalinids, and ciliates*. New York, Academic press., 1978. v. 2, p. 507-49.
3. JADIM, J. B.; WILLAERT, E. & HERMANNE, J. — Présence d'amibes limax dans l'intestin de l'homme et des animaux. *Bull. Séances, Bruxelles*, 3:520-6, 1973. [Reprint]
4. LIMA, A. O.; SOARES, J. B.; GRECO, J. B.; GALIZZI, J. & CANÇADO, J. R. — *Métodos de laboratório aplicados à clínica*. 4.<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1977. 243 p.
5. MOURA, H.; SALAZAR, H. C.; FERNANDES, O. & LISBOA, D. C. — Isolamento de amebas de vida livre em fezes de indivíduos residentes em comunidade fechada. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 19.<sup>o</sup>, Rio de Janeiro, 1983, p. 113 [Programas e resumos]
6. MOURA, H.; SALAZAR, H. C.; LISBOA, D. C. & FERNANDES, O. — Amebas de vida livre em fezes humanas. In: CONGRESSO DE LA FEDERACION LATINO-AMERICANA DE PARASITÓLOGOS, 6.<sup>o</sup>, São Paulo, 1983 [Resumos]
7. PAGE, F. C. — An illustrated key to freshwater and soil amoebae. With notes on cultivation and ecology. *Freshwater biol. Assoc. Sci. publ.*, 34:1-155, 1976.
8. PESSÓA, S. B. & MARTINS, A. V. — *Pessoa parasitologia médica*. 10.<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1977. p. 256-61.
9. PINTO, C. — Sobre uma amoeba do gênero *Vahlkampfia* encontrada no homem. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 15:122-6, 1922.

VELLOSA, S. A. G.; MANGINI, A. C. S.; NUNES, L. R. & SCHLODTMANN, A. G. — Freqüência de amebas de vida livre em fezes de indivíduos de uma creche da cidade de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):61-65, 1984.

---

10. SING, B. N. — Selectivity in bacterial food by soil amoebae in pure mixed culture and in sterilized soil. *Ann. Appl. Biol.*, 28:56-1941.
11. VISVESVARA, G. S. — The public health importance and disease potential of small free-living amoebae. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE BIOLOGY AND PATHOGENICITY OF SMALL FREE-LIVING AMOEBAE, 2nd, Gainesville, Florida, 1980. p. 28-45 [*Papers*, s.n.t.]
12. WILLAERT, E. — *Étude immuno-taxonomique des genres Naegleria et Acanthamoeba (Protozoa: Amoebida)*, Lille, 1975. [Tese — Faculté des Sciences de l'Université de Lille] *Acta Zool. Pathol.*, 65:1-239, 1976.

*Recebido para publicação em 5 de janeiro de 1984.*

