

AVALIAÇÃO DO BIODETO DE MERCÚRIO COMO PRESERVATIVO DE MATERIAL BIOLÓGICO*

Priscilla Rangel de AGUIAR **
Vitória Régia VENTURA **
Inaiá Heloísa Villares BURKART ***
João Araújo do NASCIMENTO **
Ivete Aparecida Rodrigues de LIMA **
Sansão da Rocha WESTPHALEN **

RIAL6/522

AGUIAR, P.R.; VENTURA, V.R.; BURKART, I.H.V.; NASCIMENTO, J.A.; LIMA, I.A.R. & WESTPHALEN, S.R. — Avaliação do biodeto de mercúrio como preservativo de material biológico. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):47-52, 1981.

RESUMO: Foi feita uma avaliação do biodeto de mercúrio (HgI_2) como preservativo de material biológico, tendo em vista a sua capacidade de conservação por longo tempo, e a propriedade de não aglutinar partículas. Ao sedimento obtido de 400 amostras de fezes acrescentou-se o iodo-mercurato de potássio a 0,2%, preparado com formol, álcool e soluto fisiológico, na proporção de três partes de conservante para uma parte de sedimento. Numa segunda etapa empregou-se o conservante a 0,1%, preparado com benzeno, álcool, e soluto fisiológico isotônico. Como controles utilizaram-se os conservantes de Railliet & Henry, o MIF (mertiolato, iodo e formol) e o de Schaudinn. Os resultados avaliados após seis meses revelaram que o iodo-mercurato de potássio a 0,2% (primeira fórmula) preservou adequadamente cistos e trofozoítos de protozoários, além de ovos e exemplares adultos de helmintos, com exceção dos ovos de *Hymenolepis nana* e *Hymenolepis diminuta*, que se apresentaram mais bem conservados usando a segunda fórmula. Resultados semelhantes obtiveram-se com os controles, evidenciando-se o iodo-mercurato de potássio pela propriedade de não aglutinar as partículas de fezes.

DESCRIPTORIOS: preservativo de material biológico, biodeto de mercúrio (HgI_2); biodeto de mercúrio como preservativo de material biológico; fezes, preservativo de material biológico.

INTRODUÇÃO

Os preservativos de material biológico em fezes têm grande importância na rotina de um laboratório de Parasitologia por conservarem as amostras para exame posterior e facilitarem a seleção de espécimes para fins didáticos.

Com o objetivo de obter-se um preservativo que, além de ser de fácil preparo e econô-

mico, possua a capacidade de conservar protozoários e helmintos (ovos e exemplares adultos), testou-se o complexo de iodo-mercurato de potássio em solução na concentração de 0,1 e 0,2%.

O biodeto de mercúrio já havia sido usado por WALTER³, em 1932, como preservativo de catgute, tendo-o empregado JUNOD⁴, em 1972, em solução concentrada, numa técnica para facilitar a detecção de trofozoítos de amebas intestinais.

* Realizado na Seção de Enteroparasitoses do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

*** Bolsista. Instituto Adolfo Lutz.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados os sedimentos (método de Hoffman, Pons & Janer³) de 400 amostras de fezes durante um período de 6 meses. Diariamente, após a constatação de positividade para cistos de protozoários e ovos de helmintos, coletamos de 10 a 20 amostras de fezes, cujos sedimentos eram lavados por centrifugação e distribuídos em recipientes de 15 a 30 ml, até completar as 400 amostras.

O conservante foi utilizado na proporção de três partes para uma parte do sedimento.

Preparou-se o iodo-mercurato de potássio, segundo a fórmula seguinte:

Biiodeto de mercúrio	2 g
Iodeto de potássio	2 g
Formol a 40%	5 ml
Alcool a 99,5°GL	500 ml
Solução fisiológica a 0,85% q.s.p.	1.000 ml

Como controles foram utilizados os líquidos de Railliet & Henry³, de MIF (mertiolato, iodo e formol)⁷, e o fixador de Schaudinn, modificado⁸.

Após cada adição do conservante, agitava-se para homogeneizar, tirava-se uma porção do material com pipeta Pasteur para lâmina e, após cobrir com lamínula, levava-se para exame microscópico; paralelamente em outra porção do mesmo material juntava-se uma gota de Lugol¹ e, após completa mistura com o auxílio da própria lamínula, examinava-se ao fotomicroscópio II Zeiss para fotografia.

Fezes diarréicas, positivas para trofozoítos de protozoários, eram coadas através de gaze dobrada quatro vezes, antes da adição do conservante, na mesma proporção descrita acima.

Em outras alíquotas dos mesmos sedimentos juntamos os controles na proporção de uma parte de sedimento para três de cada conservante-controle.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O exame microscópico das amostras mostrou que os ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis*, *Ancylostomidae*, *Taenia* sp. e *Schistosoma mansoni* conservaram-se em ótimas condições, para exame posterior durante pelo menos seis meses, com o iodo-mercurato de potássio a 0,2% (fig. 1a, b, c, f, g, h).

Exemplares adultos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e *Enterobius vermicularis*, mantidos na solução conservadora referida, por seis meses, não apresentam quaisquer sinais de degeneração.

Os cistos de *Isospora belli* são facilmente detectados no material conservado, tanto pelo

exame direto, como após o uso do método de Faust² (fig. 2d).

Os cistos de protozoários (fig. 2a, b, c, d) mostram nitidamente os núcleos, as estruturas nucleares e os elementos citoplasmáticos, enquanto nos trofozoítos de amebas (*Entamoeba histolytica*) nota-se, sem dificuldade, a diferenciação entre ectoplasma hialino e endoplasma granuloso (fig. 2b).

Nos trofozoítos e cistos de flagelados, os flagelos são bem visíveis (fig. 2c). Bactérias ingeridas por trofozoítos de *Entamoeba coli* aparecem bem distintas no citoplasma vacuolizado (fig. 2a).

Os cristais de Charcot-Leyden são facilmente detectados. Os detritos fecais mostram-se transparentes e corados de amarelo-claro ou amarelo pardacento nas amostras em que se juntou a solução de Lugol no momento da leitura microscópica.

Após seis meses de preservação, parece ocorrer gradativa deterioração porém, nas amostras com alta concentração de ovos e cistos, o diagnóstico específico mantém-se satisfatório.

Entretanto, com ovos de *Hymenolepis nana* e de *Hymenolepis diminuta*, não obtivemos bons resultados quando utilizamos o biiodeto de mercúrio em concentração de 0,2%. Todavia, quando empregamos o biiodeto de mercúrio a 0,1% (segunda solução), obtivemos bons resultados para todos os ovos de helmintos e principalmente para os ovos de *Hymenolepis diminuta* e de *Hymenolepis nana* (fig. 1d, e). Neste caso, contudo, não houve boa preservação de cistos e trofozoítos de protozoários.

O iodo-mercurato de potássio não aglutinou as partículas, o que favoreceu na identificação dos trofozoítos e cistos de protozoários, bem como na de ovos de helmintos.

Em outras alíquotas dos mesmos sedimentos, juntamos os controles na proporção de uma parte do sedimento para três de cada conservante controle, examinando-os ao microscópio nas mesmas condições do conservante testado, com exceção das amostras fixadas pelo Schaudinn, que foram examinadas sem adição de solução de Lugol.

Mensalmente examinávamos ao microscópio porções de todas as amostras conservadas, quer pelo exame direto ou após aplicar os métodos de Faust² e de Ritchie⁶.

As amostras preservadas que continham trofozoítos de protozoários foram lavadas por centrifugação a 500 rpm, durante 1 minuto, duas a três vezes, antes do exame ao microscópio. Os espécimes adultos, separados das fezes, eram lavados em água corrente, depois em solução fisiológica e, em seguida, eram colocados em recipientes de boca larga dentro dos quais se colocava o conservante de maneira

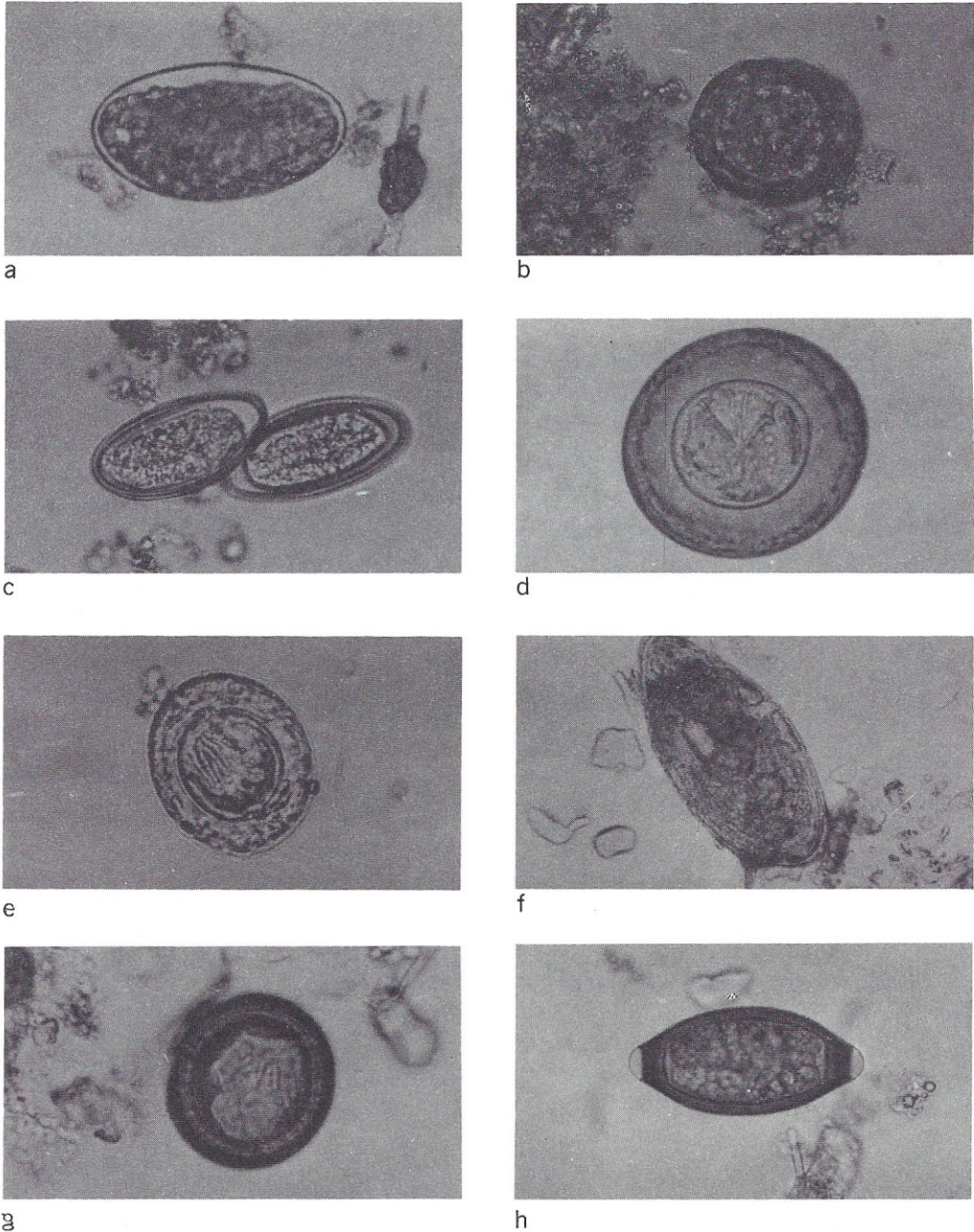


FIGURA 1 — Helmintos

a) Ovo de *Ancylostomidae*; b) ovo de *Ascaris lumbricoides*; c) ovos de *Enterobius vermicularis*; d) ovo de *Hymenolepis diminuta*; e) ovo de *Hymenolepis nana*; f) ovo de *Schistosoma mansoni*; g) ovo de *Taenia* sp.; h) ovo de *Trichuris trichiura*. Com aumento.

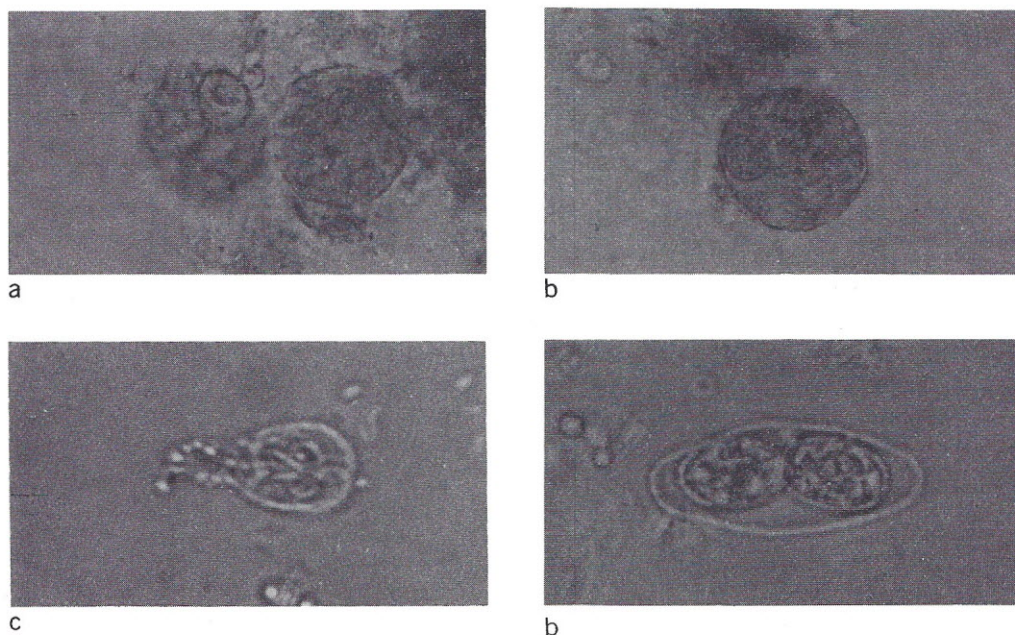


FIGURA 2 — Protozoários

- a) Trofozoítos de *Entamoeba coli* e de *Entamoeba histolytica*; b) trofozoíto de *Entamoeba histolytica*; c) trofozoíto de *Giardia lamblia*; d) oocisto de *Isospora belli*. Com aumento.

a cobri-los totalmente, tampando-se os recipientes com rolha esmerilhada.

Em uma segunda etapa, testou-se o iodo-mercurato de potássio preparado, usando-se a seguinte fórmula:

Biiodeto de mercúrio	1 g
Iodeto de potássio	1,5 g
Benzeno	10 ml
Álcool a 99,5°GL	600 ml
Sol. fisiológica a 0,85% q.s.p. ..	1.000 ml

Foram feitas observações microscópicas, tendo sido verificado que as estruturas do material preservado ainda se mantinham em perfeito estado de conservação após um período de seis meses.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem aos autores sugerir o emprego do iodo-mercurato de potássio, a 0,2%, com formol na preservação de cistos e trofozoítos de protozoários e de ovos e espécimes adultos de helmintos, reservando-se o uso de iodo-mercurato de potássio, a 0,1%, com benzeno, para preservação dos ovos de *Hymenolepis diminuta*.

O iodo-mercurato de potássio apresentou a vantagem de não aglutinar as partículas, favorecendo sobremaneira a detecção dos parasitas nas fezes.

Agradecimentos

Nossos agradecimentos ao Dr. Pedro Paulo Chieffi, Diretor do Serviço de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz, pela colaboração prestada na execução deste trabalho.

RIALA6/522

AGUIAR, P.R.; VENTURA, V.R.; BURKART, I.H.V.; NASCIMENTO, J.A.; LIMA, I.A.R. & WESTPHALEN, S.R. — Evaluation of mercury bi-iodide as preservative of biological samples. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41(1):47-52, 1981.

ABSTRACT: In order to evaluate the mercury bi-iodide (HgI_2) as a preservative, this chemical was studied regarding its ability to preserve biological material and to avoid agglutination of particles. To the sediment obtained from 400 stool specimens, mercuric potassium iodide was dissolved in formaldehyde, alcohol and physiologic saline solution, at a concentration of 0.2%. To one volume of fecal sediment, three volumes of the preservative were added in each of 400 stool specimens. The experiment was repeated using, this time, 0.1% of the preservative prepared with benzene, alcohol and isotonic saline solution. The results were compared with those obtained with standard preservatives such as Railliet and Henry, Schaudinn and MIF (merthiolate, iodine and formaldehyde). Observations done after six months revealed that 0.2% mercuric potassium iodide solution (first method) suitably preserved cysts and trophozoites of protozoa as well as eggs and adult worms of helminths, except eggs of *Hymenolepis nana* and *Hymenolepis diminuta*, which demonstrated better preservation when the second method was employed. The controls presented similar results. It was found that mercuric potassium iodide does not agglutinate stool particles.

DESCRIPTORS: preservative, biologic sample; mercury bi-iodide (HgI_2) as biologic sample preservative; feces, biologic sample preservative.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CRAIG, C.F. — *Laboratory diagnosis of protozoan diseases*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1942. p. 45.
2. FAUST, E.C.; D'ANTONI, J.S.; ODOM, V.; MILLER, M.J.; PERES, C.; SAWITZ, W.; THOMEN, L.F.; TOBIE, J. & WALKER, J.H. — A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. I. Preliminary communication. *Amer. J. trop. Med.*, 18:169-83, 1938.
3. HOFFMAN, W.A.; PONS, S.A. & JANER, J.L. — The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. *Puerto Rico J. publ. Hlth trop. Med.*, 9:283-98, 1934.
4. JUNOD, CH. — Technique coprologique nouvelle essentiellement destinée a la concentration des trophozoites d'amibes. *Bull. Soc. Pathol. exot.*, 65:390-8, 1972.
5. RAILLIET, A. & HENRY, A.C.L. apud AMATO NETO, V. & CORRÊA, L.L. — *Exame parasitológico das fezes*. 4a ed. São Paulo, Sarvier, 1980. p. 95.
6. RITCHIE, L.S. — An ether sedimentation technique for routine stool examinations. *Bull. U.S. Army med. Dep.*, 8:326, 1948.
7. SAPERO, J.J. & LAWLESS, D.K. — The "MIF" stain-preservation technique for the identification of protozoa. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 2:613-9, 1953.
8. SCHAUDINN, F. apud CRAIG, C.F. 1, p. 46.
9. WALTER-HALBERSTADT, P. — Wissenschaftlicher Teil. Steril-Catgut. *Apothekerzeitung*, Berlin, 47:1449-50, 1932.

Recebido para publicação em 27 de fevereiro de 1981.

