

ESTUDOS SÓBRE A *ENTAMOEBA MOSHKOVSKII* TSHALAIA, 1941

I — Isolamento em algumas áreas de Minas Gerais, Brasil

Edward Félix SILVA (1)

RESUMO

O Autor descreve o isolamento de 36 amostras de *Entamoeba moshkovskii* a partir de amostras de lodo colhido em 73 diferentes coleções d'água. Entre 23 córregos e ribeirões, 20 foram positivos; 4 lagoas examinadas resultaram positivas e, entre 27 cisternas examinadas, em 10 aquele amebídeo foi isolado. Tanques abertos, mananciais, nascentes, estações de tratamento de água e poços artesianos apresentaram-se geralmente negativos. No presente trabalho são feitas, também, referências à técnica de isolamento, cultivo e manutenção das amostras de *E. moshkovskii*. É estudada, também, de modo sumário, a distinção entre este amebídeo de vida livre e a *E. histolytica* e *E. ranarum*.

INTRODUÇÃO

Examinando material colhido em esgoto procedente de Moscou, TSHALAIA^{21 22} isolou uma *Entamoeba* morfológicamente indistinguível da *E. histolytica* à qual deu o nome de *E. moshkovskii*. Essa ameba foi posteriormente assinalada por WRIGHT & col.²³ nos Estados Unidos, NEAL^{16, 17} na Inglaterra, LACHANCE¹² no Canadá, RUIZ²⁰ na Costa Rica, DE CARNERI⁵ na Itália, ZAMAN²⁴ em Singapura, HIRSCHLEWOWA⁸ na Polônia, ZAMAN & SHAH BANO²⁵ no Paquistão e CONSTANT⁴ no Equador. No Brasil a *E. moshkovskii* foi isolada apenas por AMARAL & AZZI^{1, 15} a partir de material obtido de estações de tratamento de esgoto.

No presente trabalho referimos o isolamento da *E. moshkovskii* em diversas localidades de Minas Gerais, Brasil, descrevemos os locais de isolamento e discutimos brevemente a sua distinção com a *Entamoeba ranarum*. Em trabalhos posteriores alguns des-

ses aspectos, sobretudo os relacionados à técnica de isolamento e manutenção desse amebídeo serão mais detalhadamente expostos.

MATERIAL E MÉTODOS

Locais de isolamento — as experiências de isolamento de *E. moshkovskii* foram realizadas a partir de material, em geral lodo, colhido em córregos, ribeirões, estações de tratamento de água, lagoas, tanques abertos, poços artesianos, mananciais e bueiro pluvial (Tabela I). Pesquisas foram feitas também em 27 cisternas (Tabela II).

Técnicas de isolamento — o material colhido era homogenizado e sedimentado em provetas de 1.000 ml por um tempo mínimo de 3 a 4 horas. Parte do sedimento era examinado, entre lâmina e lamínula, a fres-

(1) Cadeira de Zoologia e Parasitologia da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade Federal de Minas Gerais, Laboratório de Parasitologia do Instituto Ezequiel Dias (Secretaria de Saúde, Minas Gerais), Brasil

co ou corado pelo lugol, para pesquisa de cistos ou trofozoítos de amebas. Uma segunda fração era inoculada diretamente em meio de cultura. Finalmente, parte do material era enriquecido por sedimentação espontânea em água de torneira ou por centrifugação sendo, após duas ou mais trocas de água, tratado por HCl 1N, lavado novamente em água de torneira e semeado em meio de cultura.

Meios de cultura — os materiais obtidos foram semeados nos seguintes meios de cultura:

a) meio difásico, descrito por LAMY¹³, constituído por uma parte sólida de sôro de cavalo coagulado e uma fase líquida formada por Ringer e sôro de cavalo;

b) meio monofásico formado por peptona, extrato de carne, cloreto de sódio e água (LANGERON¹⁴);

c) meio de PAVLOVA¹⁸ modificado por JONES¹⁰, composto de fosfato de sódio, fosfato monopotássico, extrato de levedo e água destilada.

Foram usados, nos meios, amido "Difco", e "Matarazo", previamente esterilizados por calor seco. Para o controle da flora bacteriana usamos penicilina e estreptomycin nas diluições de 200 unidades e 200 mcg por ml, respectivamente. Os tubos eram mantidos em temperatura ambiente e a 37°C.

Coloração das amebas — foram utilizadas as colorações pela hemateína férrica (segundo FREITAS⁷) e, mais freqüentemente, a hematoxilina férrica de HEIDENHEIN⁸ e a de AMARAL & MAYRINK². Na coloração dos cistos, além das colorações acima citadas, usamos também a hematoxilina fosfotúngstica de DOBELL⁶.

RESULTADOS

Nas Tabelas I e II estão expostos os resultados obtidos. Como se pode observar na Tabela I, material de 73 locais foram examinados sendo isoladas 36 amostras de *E. moshkovskii*. A maior parte das cepas foi isolada de córregos e ribeirões que apresentavam grau variável de poluição ao passo que tanques abertos, poços artesianos e

mananciais de água apresentavam-se em geral negativos. Entre 27 cisternas, 10 apresentaram-se positivas (Tabela II).

As amebas isoladas apresentavam trofozoítos com núcleos semelhantes aos de *E. histolytica*, apresentando cromatina regularmente disposta em tórno da membrana nuclear e cariosoma pequeno e central (Fig. 1). Formas císticas eram observadas a partir do 10º dia de cultivo e trofozoítos móveis foram encontrados mesmo após 28 dias. Mantendo-se as culturas à temperatura ambiente e a 37°C observou-se que nas duas condições o crescimento se fazia normalmente mas que, à temperatura ambiente, a proliferação das amebas era mais intensa.



Fig. 1 — Trofozoítos de *E. moshkovskii* corados pela hemateína férrica (1.500 X)

DISCUSSÃO

A *E. moshkovskii* tem sido isolada em diversas regiões do globo a partir de amostras coletadas principalmente em estações de tratamento de esgoto ou em esgoto propriamente ditos. A maioria dos trabalhos de isolamento foi feita com materiais concentrados altamente contaminados com dejectos humanos sendo raros aqueles realizados em outros locais como córregos, riachos, lagos, etc. TSHALAI²² isolou amostras em dois lagos e no rio Minsk, na Rússia. ROCOV¹⁹, pesquisando esse protozoário em reservatórios e bacias naturais abertas no Tashkent, Rússia, encontrou em 19 reservatórios a *E. moshkovskii*. De CARNERI⁵ também conseguiu isolamento desta ameba em material coletado no fundo de canal de irrigação situado nas proximidades de Milão.

Como os isolamentos da *E. moshkovskii* fora das estações de tratamento de esgotos foram relativamente poucos, procuramos, em nosso trabalho, isolá-la de córregos e ribeirões que variavam muito quanto à poluição

TABELA I

Amostras de *Entamoeba moshkovskii* isoladas de lodo e material de córregos, ribeirões, cisternas, lagoas e outros locais de Belo Horizonte e algumas cidades do interior do Estado de Minas Gerais

ISOLAMENTO DAS AMOSTRAS

N.º de ordem	Localidade	Locais de coleta	Resultado
1	Cidade Jardim — B. Horizonte	Córrego	+
2	Barroca — B. Horizonte	Ribeirão	+
3	Nova Suíça — B. Horizonte	Ribeirão	+
4	Cidade Industrial — Contagem	Córrego	+
5	Água Branca — B. Horizonte	Córrego	+
6	Cercadinho — B. Horizonte	Córrego	+
7	Salgado Filho — B. Horizonte	Ribeirão	+
8	Barreiro de Cima — B. Horizonte	Córrego	+
9	Barreiro — B. Horizonte	Córrego	+
10	Barreiro de Cima — B. Horizonte	Córrego	+
11	Jabotá — Ibitité	Ribeirão	+
12	Glalijá — B. Horizonte	Ribeirão	+
13	Tirol — B. Horizonte	Ribeirão	+
14	Cercado — B. Horizonte	Córrego	+
15	Gameleira — B. Horizonte	Rio	+
16	São Vicente — B. Horizonte	Córrego	+
17	Gameleira — B. Horizonte	Córrego	+
18	Venda Nova — B. Horizonte	Córrego	+
19	Gameleira — B. Horizonte	Córrego	+
20	Maringá — B. Horizonte	Ribeirão	—
21	Centro — B. Esperança	Ribeirão	+
22	— — Aimenara	Córrego	—
23	Praça Esportes — Nepomuceno	Córrego	—
24	Alto dos Pinheiros — B. Horizonte	Cisterna	+
25	— — Formiga	Cisterna	—
26	Cachoeirinha — B. Horizonte	Cisterna	—
27	— — Betim	Cisterna	—
28	Favela Pio XII — B. Horizonte	Cisterna	—
29	— — Teófilo Otoni	Cisterna	—
30	Vila Oeste — B. Horizonte	Cisterna	—
31	Vila Oeste — B. Horizonte	Cisterna	—
32	Dom Cabral — B. Horizonte	Cisterna	—
33	Palma — B. Horizonte	Cisterna	—
34	Bela Vista — B. Horizonte	Cisterna	+
35	São Vicente — B. Horizonte	Cisterna	—
36	Bela Vista — B. Horizonte	Cisterna	+
37	Bela Vista — B. Horizonte	Cisterna	—
38	Bela Vista — B. Horizonte	Cisterna	+
39	São Vicente — B. Horizonte	Cisterna	+
40	São Vicente — B. Horizonte	Cisterna	+
41	São Vicente — B. Horizonte	Cisterna	+
42	São Vicente — B. Horizonte	Cisterna	—
43	Bela Vista — B. Horizonte	Cisterna	+
44	Bela Vista — B. Horizonte	Cisterna	—
45	Bela Vista — B. Horizonte	Cisterna	+
46	Craveiro Lopes — B. Horizonte	Cisterna	—
47	São Vicente — B. Horizonte	Cisterna	—
48	João Pinheiro — B. Horizonte	Cisterna	—
49	Alto dos Pinheiros — B. Horizonte	Cisterna	+
50	Nova Cintra — B. Horizonte	Cisterna	—
51	Eldorado — B. Horizonte	Lagoa	+
52	Santa Cruz — Lavras	Lagoa	+
53	Gameleira — B. Horizonte	Lagoa	+
54	Venda Nova — B. Horizonte	Lagoa	+
55	Santo Antônio — B. Horizonte	Est. Tratamento de Água-Reservatório	—
56	Santo Antônio — B. Horizonte	Est. Tratamento de Água-Filtro	—
57	Santo Antônio — B. Horizonte	Est. Tratamento de Água-tangue de sedimentação	—
58	Gameleira — B. Horizonte	Nascente	—
59	Inst. Ezequiel Dias — B. Horizonte	Tanque aberto-1 (Serpentário)	—
60	Inst. Ezequiel Dias — B. Horizonte	Tanque aberto-2 (Serpentário)	—
61	Inst. Ezequiel Dias — B. Horizonte	Tanque aberto-3 (Serpentário)	—
62	Inst. Ezequiel Dias — B. Horizonte	Tanque aberto-4 (Serpentário)	—
63	Inst. Ezequiel Dias — B. Horizonte	Tanque aberto-5 (Serpentário)	—
64	Inst. Ezequiel Dias — B. Horizonte	Tanque aberto-6 (Serpentário)	—
65	Gameleira — B. Horizonte	Poço Artesiano	—
66	Pampulha — B. Horizonte	Poço Artesiano	—
67	Gameleira — B. Horizonte	Poço Artesiano	—
68	Vila Oeste — B. Horizonte	Poço Artesiano	—
69	São Vicente — B. Horizonte	Poço Artesiano	—
70	— — Divinópolis	Bueiro pluvial (vasamento de esgoto)	+
71	Quenta Sol — Alvinópolis	Manancial	—
72	ETA-Comag — Pedro Leopoldo	Manancial	—
73	— — Divinópolis	Manancial	+

TABELA II

Resultado obtido no isolamento de amostras de *Entamoeba moshkovskii* Tshalala, 1941 em diferentes locais de coleta

Córregos e Ribeirões			Lagoas			Cisternas			Outros locais *		
N.º	Positivas	% de Positividade	N.º	Positivas	% de Positividade	N.º	Positivas	% de Positividade	N.º	Positivas	% de Positividade
29	20	86,9	4	4	100	27	10	37,0	19	2	10,5

* Outros locais: estação de tratamento de água, mananciais, poços artesianos, nascente, bueiro pluvial, tanques abertos

por esgotos, volume de água, etc. Outros locais, tais como cisternas, lagoas, bueiros fluviais, mananciais de água, poços artesianos, tanques abertos, etc.

Em Belo Horizonte e periferia foram pesquisados 20 córregos e ribeirões, resultando todos positivos; entre 4 ribeirões do interior do Estado de Minas Gerais, um deles, que servia de escoadouro de esgotos, foi positivo. A *E. moshkovskii* foi isolada em 10 cisternas entre as 27 examinadas. Embora em tôdas elas a colimetria fôsse alta, o que indica poluição elevada, esta era muito menor do que os córregos e ribeirões nos quais caem esgotos, o que parece indicar que aquela ameiba pode viver fora de meios diretamente contaminados por esgotos. De outro lado, a *E. moshkovskii* foi pesquisada em poços artesianos, tanques abertos e mananciais de abastecimento, não sendo, entretanto, isolada. Êsses fatos parecem demonstrar que a *E. moshkovskii* pode ocorrer em locais os mais diversos, independentemente da existência ou não da contaminação por esgotos, mas exigindo, provavelmente, uma grande quantidade de matéria orgânica em decomposição, como referiu NEAL¹⁷.

A morfologia das amebas por nós estudadas concorda com as descrições de TSHALALA^{21, 22}, NEAL^{16, 17}, AMARAL & AZZI^{1, 15} e JORDAN²¹, embora não tenhamos encontrado trofozoítos com mais de quatro núcleos como foi descrito por TSHALALA^{21, 22}. A maioria dos trofozoítos por nós observados possuía um só núcleo, alguns eram binuclea-

dos e raramente apresentavam quatro núcleos. Em relação aos cistos, confirmamos as observações de NEAL^{16, 17} e de JORDAN²¹ no que tange aos vacuolos de glicogênio, corpos cromatóides e estrutura dos núcleos mas não observamos cistos com mais de 4 núcleos como foi descrito por NEAL¹⁷.

Praticamente não foram assinaladas diferenças morfológicas entre amostras de *E. moshkovskii*, *E. ranarum* e *E. histolytica*, a não ser no tamanho de cistos e trofozoítos. No entanto, as nossas observações concordam com as observações já clássicas de que a *E. moshkovskii* difere acentuadamente da *E. histolytica* pela sua capacidade de desenvolvimento em uma faixa bastante variável de temperatura, crescendo, inclusive, mais abundantemente em temperatura ambiente que a 37°C. Além disso, as amostras de *E. moshkovskii* foram capazes de permanecer em cultura por longo período sem serem submetidas a passagens sucessivas.

Considerando a semelhança, já assinalada por TSHALALA^{21, 22}, AMARAL & AZZI^{1, 15} e HOARE⁹ entre a *E. moshkovskii* e a *E. ranarum*, foi feito um estudo comparativo entre essas duas espécies, que será objeto de trabalho posterior. De qualquer modo pode ser dito que experiências feitas na tentativa de infetar girinos, rãs e sapos com amostras de *E. moshkovskii* foram infrutíferas. Tentativas de isolamento de *E. ranarum* de rãs e sapos de uma lagoa onde a *E. moshkovskii* foi isolada também não foi bem sucedida e, finalmente, a *E. moshkovskii* não foi isolada

em algumas coleções d'água em que sapos e rãs infetados por *E. ranarum* foram encontrados. Esses dados e muitos outros que serão posteriormente expostos nos levam a afirmar que a *E. moshkovskii* é a espécie isolada repetidamente por nós nas diferentes áreas estudadas.

SUMMARY

Studies on the Entamoeba moshkovskii Tshalaia, 1941. I — *Isolation in some areas of the State of Minas Gerais, Brasil*

The Author reports the isolation of 36 strains of *Entamoeba moshkovskii* from 73 different water samples collected in Minas Gerais, Brasil. The techniques used for the isolation, culture and maintenance of this free-living amoeba are described. The distinction between *E. moshkovskii* and *E. ranarum* and/or *E. histolytica* has been shortly discussed.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMARAL, A. D. F. & AZZI LEAL, R. — Sobre uma *Entamoeba* semelhante a *Entamoeba histolytica*, encontrada em material de esgoto. *Rev. Paul. Med.* 34:173-176, 1949.
2. AMARAL, A. D. F. & MAYRINK, W. — Diagnóstico de laboratório de protozoários intestinais: modalidade prática para o emprego do fixador de Schaudinn. *Rev. Paul. Med.* 50:1-3, 1957.
3. ANDERSON, H. H. — "Heidenain's iron hematoxylin staining method". In *Amebiasis*. Springfield (Ill), C. Thomas, p.p. 282-283, 1953.
4. CONSTANT, M. R. — Observaciones sobre *Entamoeba moshkovskii* — Ameba de vida libre aislada en la ciudad de Guayaquil. *Rev. Ecuat. Hig. Med. Trop.* 22:157-161, 1965.
5. DE CARNERI, I. — *Entamoeba moshkovskii* — Like amoebae in Milan; some considerations of status. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 57:148, 1953.
6. DOBELL, C. — Some new methods for studying intestinal amoebae and other Protozoa. *Parasitology* 34:101-103, 1942.
7. FREITAS, G. — Um método de coloração citológica pela hemateína férrica. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 31:707-717, 1936.
8. HIRSCHLEWOWA, Z. & SWIECICKI, A. — Two strains of *Entamoeba moshkovskii* (Cajala, 1941) in the Coastal area. (Em polonês). *Bull. Inst. Mar. Med. Gdansk* 11:147-155, 1960.
9. HOARE, C. A. — Comentários aos trabalhos de Gordon e Tshalaia. *Trop. Dis. Bull.* 40:311, 1943.
10. JONES, W. R. — Experimental attempt to induce drug-resistance in *Entamoeba histolytica*. *J. Exp. Parasit.* 1:118-128, 1952.
11. JORDAN, R. A. — *A study of Entamoeba moshkovskii: its morphology, cultural and pathologic relationships to some entozoic amebas of reptiles and man*. Thesis. Tulane University, 1954.
12. LACHANCE, B. P. J. — A Canadian strain of *Entamoeba moshkovskii* Tshalaia, 1941. *Canad. J. Zool.* 37:415-417, 1959.
13. LAMY, L. — Technique générale de culture de protozoaires parasites des voies digestives et génitales. *Biol. Med.* 62:210-272, 1963.
14. LANGERON, M. — "Milieux au sérum coagulé" In *Précis de Microscopie*. 7.^a edição. Paris, Masson, pág. 781, 1949.
15. LEAL, R. A. & AMARAL, A. D. F. — Novos estudos sobre amebas encontradas em esgotos, com referência especial a uma *Entamoeba* (*Entamoeba moshkovskii*) semelhante a *Entamoeba histolytica*. *Arq. Fac. Hig. São Paulo* 4:125-133, 1949.
16. NEAL, R. A. — A species of *Entamoeba* from sewage. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 44:9, 1950.
17. NEAL, R. A. — Studies on the morphology and biology of *Entamoeba moshkovskii*, Tshalaia, 1941. *Parasitology* 43:243-268, 1953.
18. PAVLOVA, E. A. — Sur les methodes de la culture d'*Entamoeba histolytica*. (Em russo). *Med. Parasit. (Moscou)* 7:244. Resumo em *Trop. Dis. Bull.* 36:286, 1939.
19. ROGOV, L. I. — Algumas observações sobre a *Entamoeba moshkovskii*. (Em russo). *Med. Parasit. (Moscou)* 27:330-334, 1958.
20. RUIZ, A. — *Entamoeba moshkovskii* Tshalaia, 1941 em Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 8:253-261, 1960.
21. TSHALAIA, L. E. — Sobre uma espécie de *Entamoeba* descoberta em águas poluídas. (Em russo). *Med. Parasit. (Moscou)* 10:244, 1941. Resumo em *Trop. Dis. Bull.* 40:311, 1943.

22. TSHALAIA, L. E. — Contribuição para o estudo da *Entamoeba moshkovskii*. (Em russo). *Med. Parasit. (Moscou)* 16:66, 1947. Resumo em *World Med.* 4:110, 1948.
23. WRIGHT, W. H.; CRAM, E. B. & NOLAN, M. O. — Preliminary observations on the effect of sewage treatment processes on the ova and cysts of intestinal parasites. *Sewage Works J.* 14:1274-1280, 1942.
24. ZAMAN, V. — Isolation of *Entamoeba moshkovskii*, Tshalaia, from Singapore Sewage. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 56:344, 1962.
25. ZAMAN, V. & SHAH BANO — Isolation of *Entamoeba moshkovskii*, Tshalaia, from Karachi sewage. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 61:153, 1967.

Recebido para publicação em 15/7/1968.