

EMPREGO DE CORANTES PARA FACILITAR A DETECÇÃO DE OVOS DE *Fasciola hepatica* e *Paramphistomum* spp*

Easy Detection of *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum* spp. eggs by staining of Fecal Debris

Eneide Santiago Girão** e Hakaru Ueno***

RESUMO

Para a coloração de fibras fecais, resultante de exames coprológicos para o diagnóstico de ovos de *Fasciola hepatica*, foram testados sete corantes adicionando-se de uma a três gotas do produto em placa de Petri, procedendo-se a coloração de seis amostras fecais de bovinos e ovinos, respectivamente, com cada corante. O verde de metila, azul de metileno e o azul de toluidina foram os que formaram melhor contraste entre as fibras fecais e os ovos de trematódeos, facilitando a visualização e a diferenciação dos ovos de *Fasciola hepatica* e *Paramphistomum* spp. A solução verde brilhante de Goldner também formou contraste, mas em intensidade menor do que as anteriores. O ácido pícrico e a picrofucsina de Van Gieson não formaram contraste, dificultando a visualização dos ovos. O lugol, ao se adicionar uma gota, raramente formava contraste; com duas ou três gotas formava contraste mas dificultava a diferenciação entre ovos de *Fasciola hepatica* e de *Paramphistomum* spp, que se apresentavam avermelhados.

UNITERMOS: Método de coloração de ovos, *Fasciola hepatica*, *Paramphistomum* spp.

SUMMARY

The seven common and different stainings were tested for a basic study of fecal examination of fascioliasis of ruminants with an aim of

* Parte da dissertação apresentada pelo primeiro autor para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária. Faculdade Veterinária - UFRGS.

** Méd. Vet. M.Sc., Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Estudual de Teresina - UEPAT/EMBRAPA - Caixa Postal 01, CEP: 64.000 - Teresina - PI.

*** Méd. Vet. PhD. Professor Visitante. UFRGS - Porto Alegre - RS.

easy detection of *Fasciola hepatica* eggs in fecal debris sedimented at the bottom of Petri dishes under the stereomicroscope. Staining of the debris with the solutions of methyl green (0,5%), methylene blue (1%) and toluidine blue (1%) gave the best visualization and differentiation of *Fasciola hepatica* eggs. The light green Goldner solution also revealed well contrast but the intensity was less than the former three stainings. A saturate solution of picric acid and the picric fuchsin solution of Van Gieson did not give well contrast. The staining of fecal debris with a small and adequate quantity of the lugol solution revealed good enough visualization of *Fasciola hepatica* eggs, however the excess of the solution stained both eggs: *Fasciola* and *Paramphistomum* and caused confusion in their differentiation under a low magnifying power.

KEY WORDS: Staining eggs method, *Fasciola hepatica*, *Paramphistomum* spp.

INTRODUÇÃO

Diversos autores, entre eles DENNIS et alii (2), TAYLOR (10), HAPPICH & BORAY (6) e BENDEZU & LANDA (1), preconizam o exame coprológico como a forma mais segura para o diagnóstico da fasciolose crônica. Existem várias referências sobre técnicas de diagnóstico coprológico de fasciolose crônica dos ruminantes. Estas técnicas têm como princípio básico concentrar os ovos existentes na matéria fecal aplicando procedimentos de flutuação, sedimentação e tamisação.

Segundo VAN SOMEREN (12) ovos de trematódeos não são vistos facilmente entre as fibras fecais. Um recurso auxiliar adotado nas técnicas é o uso de corantes: vermelho neutro, lugol, azul de metileno e verde de metila, adotado respectivamente, nas técnicas de: VAN SOMEREN (12), SWANSON & HOPPER (9), DORSMAN (3) e UENO & ALVAREZ (11), objetivando uma melhor visualização dos ovos pela formação de contraste entre este e as matérias fecais finas.

GONÇALVES & SALES (5), no Rio Grande do Sul, referem-se sobre uma relativa dificuldade em se visualizar ovos de *Fasciola hepatica* nos exames de fezes comumente procedidos e citam ainda que "é preciso que o profissional tenha bastante prática e despenda mais ou menos de 10 a 30 minutos para cada exame". MATTOS et alii (7) ao desenvolverem um

um trabalho sobre fasciolose em ruminantes também no Rio Grande do Sul, chamam a atenção para o fato de que, ao se realizar o exame coprológico, deve-se observar os ovos de *Fasciola* com o máximo cuidado, pois podem ser confundidos com ovos de *Paramphistomum*.

O objetivo desta pesquisa foi verificar qual o tipo de produto utilizado para a coloração das fibras fecais que proporcione uma melhor visualização e diferenciação de ovos de *Fasciola hepatica* e de *Paramphistomum* spp., o que possibilitará um diagnóstico quantitativo mais seguro.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório do Setor de Helminthoses da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no período de janeiro a fevereiro de 1982.

Utilizaram-se fezes de bovinos e ovinos, naturalmente infectados e criados a campo, procedentes de propriedades nos municípios de Bagé, Camaquã, Dom Pedrito, Nova Petrópolis e Santa Vitória do Palmar.

Para coloração do sedimento, resultante da técnica de quatro tamises (GIRÃO, 4), adicionaram-se uma a três gotas do corante em placa de Petri, procedendo-se à coloração de seis amostras fecais de bovinos e ovinos, respectivamente, com cada corante.

Ao estereomicroscópio, foi definida a coloração de melhor contraste entre as fibras fecais e os ovos de trematódeos, bem como a que proporcionasse uma boa visualização e diferenciação entre ovos de *Fasciola hepatica* e de *Paramphistomum* spp.

Foram testados os seguintes produtos*:

- Ácido pícrico (solução saturada em água destilada);
- Azul de toluidina (1% em álcool);
- Azul de metileno (1% em água destilada).
- Lugoí Padrão
- Picrofucsina de Van Gieson
- Solução verde brilhante de Goldner
- Verde de metila (0,5% em água destilada).

* E. Merck, Darmstadt, Alemanha.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ovos de trematódeos, não são vistos facilmente entre as fibras fecais, porém a adição de duas gotas de corante ao sedimento, na placa de Petri, facilita sua visualização. (VAN SOMEREN, 12).

Dos corantes testados (Tabela 1), o verde de metila, azul de metileno e azul de toluidina foram os que formaram melhor contraste entre as fibras fecais e os ovos de *Fasciola hepatica* e *Paramphistomum* spp. O verde brilhante de Goldner também formou contraste, mas em intensidade menor do que os anteriores, facilitando também a visualização dos ovos. Estes corantes, não coram ovos de trematódeos e sim todas as fibras fecais. A cor dos ovos de *Fasciola hepatica* (amarelo-castanho), permanece inalterada, mas eles são mais prontamente distinguidos na placa de Petri, no momento da contagem.

O lugol, dependendo da quantidade de gotas adicionadas formava contraste. Com uma gota, raramente forma contraste entre as fibras e os ovos de *Fasciola hepatica*; duas ou três gotas havia contraste, mas dificultava a diferenciação entre ovos de *Fasciola hepatica* e de *Paramphistomum* spp., que se apresentavam avermelhados. SWANSON & HOPPER (9) foram os primeiros a corar ovos de trematódeos com lugol, o qual segundo os autores auxiliava na detecção e contagem. O emprego deste corante é também adotado nas técnicas de RIVERA-ANYA & MARTINEZ (8) e DENNIS et alii (2).

O ácido pícrico e a picrofucsina de VAN GIESON, testados também neste trabalho, não formaram contraste. A adição destes ao sedimento, dificultava a visualização dos ovos de *Fasciola hepatica*.

CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Nas condições em que se realizou a presente pesquisa, concluiu-se que:

- Os corantes: verde de metila, azul de toluidina e azul de metileno, proporcionaram uma melhor visualização e diferenciação de ovos de *Fasciola hepatica* e *Paramphistomum* spp.

- O lugol, dependendo da quantidade de gotas adicionadas (duas a três) formava contraste entre as fibras e os ovos de trematódeos, entretanto, em algumas vezes dificultava a diferenciação entre ovos de *Fasciola hepatica* e *Paramphistomum* spp.

TABELA 1. Coloração adquirida pelos ovos de *F. hepática* e fibras em amostras fecais de bovinos e ovinos.

Corantes testados	Coloração adquirida		Observações
	Ovos de <i>F. hepática</i>	Fibras fecais	
Ácido pícrico	amarelo castanho (natural)	amarelo a castanho escuro (natural)	Não forma contraste, a visualização dos ovos é dificultada.
Azul de toluidina	natural	azul	Forma contraste. Os ovos são facilmente detectados. Campo microscópico bem nítido.
Azul de metileno	natural	azul	Forma contraste. A visualização dos ovos é facilitada.
Lugol	avermelhado a castanho escuro	natural	O contraste depende da quantidade de gotas adicionadas. Com 1 gota raramente forma contraste, dificultando a visualização. Com 2 ou 3 gotas, forma contraste.
Picrofucsina de Van Gieson	natural	natural	Não forma contraste. Dificulta a visualização dos ovos.
Verde brilhante de Goldner	natural	verde	Forma contraste com menor intensidade. A visualização dos ovos é facilitada.
Verde de metila	natural	verde	Forma contraste, facilitando a detecção dos ovos.

- Entre os corantes que proporcionaram uma melhor visualização e diferenciação dos ovos de *Fasciola hepatica* e de *Paramphistomum* spp., o verde de metila poderá ser o mais indicado na coloração do sedimento resultante de exames coprológicos para o diagnóstico de ovos de trematódeos.

LITERATURA CITADA

1. BENDEZŪ, P.B. & LANDA, A.H. Distomatosis hepática. Epidemiologia y Control. *Bol. Div. Univ. Nac. M. San Marcos, IVITA*, (14):1-32, 1973.
2. DENNIS, W.R.; STONE, W.M. & SWANSON, L.E. A new laboratory and field diagnostic test for fluke ova in feces. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 124:47-50, 1954.
3. DORSMAN, W. A new technique for counting eggs of *Fasciola hepatica* in cattle faeces. *J. Helminthol.*, 30:165-72, 1956.
4. GIRÃO, E.S. Técnica de quatro tamises para o diagnóstico coprológico quantitativo da fasciolose dos ruminantes. Porto Alegre, Faculdade de Veterinária, UFRGS, 1982, 64 p. (Tese MS - Parasitologia).
5. GONÇALVES, P.C. & SALES, R.L. Eficácia e praticabilidade da intradermoreação no diagnóstico da fasciolose bovina. Porto Alegre. *R. Fac. Agron. Vet.*, 6:41-50, 1963.
6. HAPPICH, F.A. & BORAY, J.C. Quantitative diagnosis of chronic fasciolosis. 1. Comparative studies on quantitative faecal examinations for chronic *Fasciola hepatica* infection in sheep. *Aust. Vet. J.*, 45:326-8, 1969.
7. MATTOS, M.J.T.; SILVA, I.C.C.; MÜLLER, G.; GONÇALVES, P.C. & UENO, H. Fasciolose II: diagnóstico, tratamento e profilaxia em ruminantes. *Lavoura Arrozeira*, 33(325):57-68, nov/dez, 1980.
8. RIVERA-ANAYA, J.D. & MARTINEZ, J.J. An improved technique for the microscopic diagnosis of liver fluke infection in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 120:203-4, 1952.
9. SWANSON, L.E. & HOPPER, H.H. Diagnosis of liver fluke infection in cattle. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 117:127-9, 1950.
10. TAYLOR, E.L. *Fascioliasis and the liver fluke*. Roma, FAO/ONU, 1964.
11. UENO, H. & ALVAREZ, J.M.V. *Manual de laboratório para el diagnóstico de helmintos en ruminantes*. Santo Domingo, Universidade Autónoma de Santo Domingo Press. 1971.
12. VAN SOMEREN, V.D. A sedimentation method for the detection and counting of *Fasciola* eggs in faeces. *J. Camp. Path.*, 57:240-4, 1947.