

## COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

# Efeito da safranina-azul de metileno na coloração dos oocistos de *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae)\*

## Effect of safranin-methylene blue in the staining of *Cystoisospora felis* (Wenyon, 1923)Frenkel, 1977 oocysts (Apicomplexa: Cystoisosporinae)

Patrícia Seibel Melo,\*\* Simoni Machado de Medeiros,\*\*\* Carlos Wilson Gomes Lopes\*\*\*\*

### Resumo

A técnica de coloração por safranina-azul de metileno é um método indicado para a identificação dos oocistos de *Cystoisospora felis* em esfregaços de fezes, devido a resolução, especificidade e sensibilidade da coloração às estruturas morfológicas. Amostras de fezes após serem identificadas como positivas para oocistos de *C. felis* foram coradas pela técnica da safranina-azul de metileno. Após a coloração, os oocistos foram identificados por suas estruturas morfológicas, onde os esporocistos e esporozoítas coraram-se em vermelho-rubi, em contraste com o citoplasma e parede dos oocistos, que mantiveram sua coloração original, sem modificar as características da espécie estudada.

**Palavras-chave:** *Cystoisospora felis*; oocistos; coloração; safranina-azul de metileno.

### Abstract

The Safranin-Methylene Blue staining is a method specific and sensible definition for the diagnosis of *C. felis* oocysts. Fecal samples were previously indicated as positive for *C. felis*, were stained by Safranin-Methylene Blue. After staining, the oocysts were identified by their morphological structures, mainly sporocysts and sporozoites, which were stained in ruby-red while the cytoplasm and oocyst wall which maintained their original color, without changed morphological characteristics of the species studied.

**Keywords:** *Cystoisospora felis*; oocysts; stain; safranin-methylene blue.

A diarreia é clinicamente uma síndrome caracterizada por fezes líquidas ou semi-líquidas, em grande frequência e quantidade, provocando, conseqüentemente, desidratação.

Na etiologia da diarreia incluem-se agentes infecciosos, parasitários, de natureza alimentar ou ambiental. Entre as causas parasitárias, observa-se a Cistoisosporose felina.

A cistoisosporose felina tem como agentes etiológicos as espécies *Cystoisospora felis* e *C. rivolta*, sendo caracterizada pela presença de oocistos nas fezes, ou ainda associados ao quadro clínico de diarreia e desidratação com a presença de formas evolutivas dos parasitos.

A técnica de coloração por safranina-azul de metileno descrita por Baxby et al. (1984) é, segundo estes autores, o método mais indicado para identificação de oocistos pois estes permanecem com medidas próximas às dos oocistos não corados. Esta técnica tem sido estudada para identificação de

oocisto de *Cyclospora* e *Cryptosporidium*, e em ambos os casos obteve-se uma coloração uniforme, com boa sensibilidade e especificidade e bem detalhável. (Kang, Mathan, 1996, Smith et al., 1989 e Visvesvara et al., 1997). Amostras de fezes, de felinos naturalmente infectados, com oocistos de *C. felis* foram obtidas no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro. Estas foram processadas da seguinte forma: diluídas em água destilada, filtradas através de tamis com gaze dobrada. O produto filtrado foi sedimentado em cálice de Hoffman por uma hora. O sedimento resultante foi fixado em formalina a 10%. Uma amostra do material fixado foi centrifugada por três vezes consecutivas, por 10 minutos a 1.500 rpm. De cada centrifugação, se desprezou o sobrenadante e aproveitou-se o sedimento. Deste sedimento foram feitos esfregaços que, após de secos, eram fixados em metanol clorídrico a 3% por 3 a 5 minutos. Depois deste tempo, o esfregaço foi lavado em água corrente para, então,

\* Sob os auspícios do CNPq.

\*\* Curso de Medicina Veterinária e bolsista de Iniciação Científica (CNPq/UFRRJ-PIBIC).

\*\*\* Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária-Parasitologia Veterinária da UFRRJ.

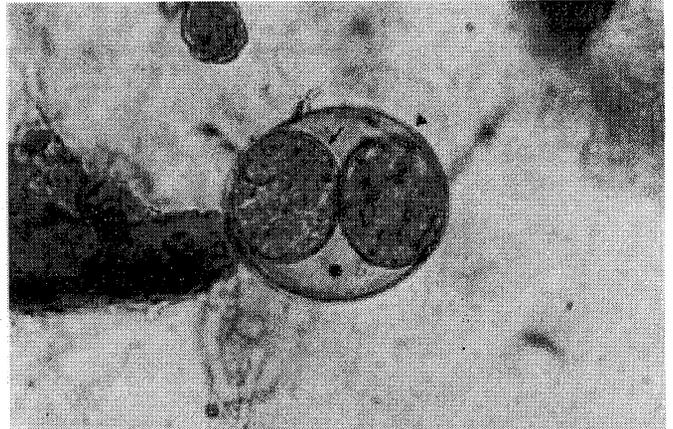
\*\*\*\* Departamento de Parasitologia Animal, IB, UFRRJ, CEP 23890-000. Seropédica, RJ, Brasil.

corar as lâminas com a solução de safranina. Durante esta coloração é necessário o uso de uma lamparina para aquecimento da solução de safranina. Se necessário, adiciona-se mais safranina à lâmina. A seguir, a lâmina foi lavada em água corrente, e então, coberta com a solução de azul de metileno por 1 minuto. A lâmina foi, então, lavada em água corrente. Os esfregaços, agora corados e secos, foram montados entre lâmina e lamínula com bálsamo de Canadá.

Os oocistos de *C. felis* (Figura 1), identificados nos esfregaços de fezes pela coloração safranina-azul de metileno, tiveram boa definição morfológica, com caracterização dos esporocistos e esporozoítas. Estas estruturas apresentaram-se com coloração vermelho-rubi. Esta coloração veio a facilitar também no diagnóstico dos oocistos de *C. felis* em amostras fecais de felinos, prevenindo a quem as manuseia a contaminação com outros agentes etiológicos passíveis de serem transmitidos para humanos.

### Referências bibliográficas

- BAXBY, D., BUNDELL, N., HART, C.A. The development and performance of a simple sensitive method for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in faeces. *J. Hyg.*, v. 93, p. 317-323, 1984.
- KANG, G., MATHAN, M. N. A comparison of five staining methods for detection of *Cryptosporidium* oocysts in faecal specimens from the field. *Indian J. Med. Res.*, v. 103 p. 264-266, 1996.



**Figura 1:** *Cystoisospora felis*. Oocisto observado nas fezes de um gato. Esporocistos (→), esporozoítas (★), citoplasma (✱) parede do oocisto (▶). S-AM, 1000X.

- SMITH, H.V., McDIARMID, A., SMITH, A.R.H., GILMOUR, R. A. An analysis of staining methods for detection of *Cryptosporidium* spp oocysts in water-related samples. *Parasitology*, v. 99, p.323-327, 1989.
- VISVESVARA, G. S., MOURA, H., KOVACS-NACE, E., WALLACE, S., EBERHARD, M. L. Uniform staining of *Cyclospora* oocysts in faecal smears by a modified Safranin technique with microwave heating. *J. Clin. Microbiol.*, v. 35, p. 730-733, 1997.