

FACULDADE DE HIGIENE E SAÚDE PÚBLICA DA UNIV. DE SÃO PAULO

**DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA**

(Diretor: Prof. Dr. Paulo Cesar de Azevedo Antunes)

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA**

(Diretor: Prof. Dr. Samuel Barnsley Pessoa)

---

NOVOS ESTUDOS SÔBRE AMEBAS ENCONTRADAS EM ESGÔTO, COM  
REFERÊNCIA ESPECIAL A UMA ENDAMEBA (*E. MOSHKOVSKII*)  
SEMELHANTE À *ENDAMOEBIA HISTOLYTICA*

RUBENS AZZI LEAL

Professor Adjunto

e

A. DACIO F. AMARAL

Docente-livre e Assistente

Gordon (1941), examinando o esgôto de Moscou repetidamente durante três anos, encontrou cistos viáveis dos seguintes protozoários intestinais humanos: *E. histolytica*, *E. coli*, *G. intestinalis*, *E. nana* e *I. bütschlii*. Verificou mais que, após tôdas as fases de purificação, o efluente, quando lançado ao rio, ainda continha formas císticas vivas, sendo que as de *E. histolytica* não eram afetadas pelo cloro residual, mesmo na concentração de 12,7 p.p.m., atuando durante 30 minutos.

Tshalaia (1941) isolou do esgôto da mesma cidade, além de vários protistas de vida livre, cistos de *E. coli*, *I. bütschlii*, *E. nana*, *G. intestinalis*, bem como outros morfológicamente semelhantes aos de *E. histolytica*. Estudou detidamente êstes últimos, verificando que: a) desenvolviam-se bem em temperaturas variando de 15 a 37°C; mantinham sua viabilidade após 20 dias de permanência a -2°C e após um mês, de 0 a 2°C; toleravam no máximo temperatura de 39-40°C; cultivavam-se bem, não só nos meios habitualmente usados para as amebas parasitárias do intestino humano, como também em infusão de feno e água de torneira contendo amido. Falharam as tentativas para inocular o referido organismo em gatinhos.

Morfológicamente, da descrição que Tshalaia fêz, verifica-se que a forma ativa apresentava cerca de 25 micra, em média. A maioria dos exemplares eram uninucleados, mas em culturas verificou indivíduos até com 32 núcleos. As formas císticas tinham, em média, 10 micra, e o número de núcleos variava de 1 a 4.

Pelas características biológicas do organismo encontrado, o autor excluiu a possibilidade de se tratar da endameba patogênica. Também afastou a hipótese de estar em presença da *E. ranarum*, que, como se sabe, é morfológicamente

indistinguível da *E. histolytica*. Excluiu-a porque a única fonte possível de *E. ranarum*, os resíduos do Parque Zoológico de Moscou, constituíam contingente desprezível, em relação ao volume do esgoto da Cidade, enquanto que a nova endameba era facilmente isolada em qualquer setor da rede de esgotos. Em vista desses fatos, Tshalaia considerou-a como nova espécie coprofílica, de vida livre, à qual deu o nome de *Entamoeba moshkovskii*.

Hoare (1943), comentando os trabalhos dos dois autores russos atrás citados, após considerar a importância epidemiológica do assunto, fez os seguintes reparos: 1.º — que os cistos de *E. histolytica* foram os únicos de origem humana não mencionados por Tshalaia, o que estava em conflito com a observação de Gordon, que os identificou em material semelhante; 2.º — que os argumentos aventados para afastar a hipótese de *E. ranarum* não eram suficientemente convincentes, sendo admissível que, não só endamebas de origem humana como também de batráquios estivessem presentes no referido esgoto.

Wright e col. (1942), nos Estados Unidos, isolaram de lodo digerido de esgoto um protozoário com os característicos da endameba descrita por Tshalaia, e admitiram a validade da *E. moshkovskii*.

Gnezdilov (1947), por sua vez, isolou a mesma ameba dos efluentes de esgoto de Leningrado.

Tshalaia (1947), que havia interrompido suas investigações durante a guerra, retomou-as em 1944, tendo verificado a presença de formas ativas e encistadas da *E. moshkovskii*, não só no esgoto de Moscou, em lugares já trabalhados, como também em água poluída de poços e rios daquela cidade e da de Minsk.

Nós (Amaral & Azzi Leal, 1949), examinando lodo digerido da Estação de tratamento de esgoto do Educandário D. Duarte, na cidade de São Paulo, encontramos, pelo processo de Faust et al., ovos de ancilostomídeos, *E. vermicularis*, *A. lumbricoïdes*, *T. trichiurus* e *H. nana*, bem como cistos de protozoários semelhantes aos de *E. histolytica*, *E. coli* e *E. nana*. O exame direto da referida amostra de lodo revelou numerosas formas trofozoíticas com movimentação e morfologia semelhantes às da *E. histolytica*.

Após tratamento apropriado do lodo, os cistos nele contidos foram semeados em meio de cultura para amebas, descrito por um de nós (Amaral, 1945), tendo-se verificado, ao cabo de 24-48 horas, abundante desenvolvimento de trofozoítos, que, a fresco ou sob coloração pela hematoxilina férrica, apresentavam os caracteres morfológicos da *E. histolytica* (figs. 1, 2, 3 e 4). Posteriormente, observamos, nos repiques sucessivos das culturas, o aparecimento de formas precísticas e císticas semelhantes às da endameba patogênica (figs. 5 e 6).

Neal (1950) encontrou, examinando o esgoto da cidade de Londres, a *E. moshkovskii*, observação esta que vem demonstrar a grande disseminação do protozoário, isolado, via de regra, de águas servidas.

#### NOVAS OBSERVAÇÕES SOBRE O ASSUNTO

##### *Isolamento de amebas do esgoto*

Continuando nossos estudos, temos isolado, pela mesma técnica descrita em trabalho anterior (Amaral & Azzi Leal, 1949), a *E. moshkovskii* de lodo dige-



rido de esgôto, proveniente de 3 pequenas estações de tratamento, na cidade de São Paulo (Ipiranga, Jaçanã e Educandário D. Duarte). No caso desta última, o isolamento foi obtido igualmente de efluente final clorado a 3 p.p.m.

Juntamente com o organismo acima referido, desenvolveu-se em uma das culturas outra ameba, caracterizada por movimentos muito ativos, e por um núcleo nitidamente visível sob a forma de uma vesícula. Corada pela hematoxilina, verificamos que o núcleo apresenta um cariósoma grande, redondo, central e não possui cromatina sob a respectiva membrana (fig. 7), notando-se, nos exemplares bem corados, a presença de uma estrutura reticulada, em redor do cariósoma. Não pudemos, até o momento, chegar a uma conclusão definitiva sobre a identidade desta última ameba, que apresenta, entretanto, certa semelhança com as espécies, de vida livre, do gênero *Hartmannella*.

#### *Ação do dessecamento, temperatura e oxigênio*

No andamento de nossos estudos, foi-nos dado fazer uma série de observações sobre as duas amebas, que se apresentavam associadas em cultura.

Inicialmente, investigamos a influência da dessecação sobre a viabilidade das mesmas.

A amostra do lodo digerido, que permitiu o isolamento daquelas amebas, tinha 78,5% de umidade. Lentamente, em temperatura de 28°C, a umidade desse lodo foi reduzida a 41%, ao cabo de 35 dias. E, nessas condições, conseguimos ainda cultivar os dois tipos de amebas já isoladas na amostra inicial. Parte desta amostra teve a sua umidade baixada para 9%, sob a ação direta do sol. A cultura desse material assim dessecado não mais permitiu o desenvolvimento da endameba, crescendo apenas organismos semelhantes à *Hartmannella*. Tentamos por isso isolá-la de lodo digerido com 7,3% de umidade conservado no laboratório há quatro anos. Os tubos de cultura contendo esse material, em temperatura ambiente e a 37°C, deram, ao cabo de 48 horas, abundante desenvolvimento desse protozoário, o que evidencia a grande resistência de seus cistos à dessecação e ao tempo.

Com a finalidade de verificar a influência da temperatura sobre o crescimento desses dois organismos, fizemos culturas dos mesmos em diferentes condições. Até o presente, observamos somente o efeito de temperaturas de 6 a 42°C. Dentro desses limites, dá-se o desenvolvimento.

Repiques conservados a 6°C, durante uma semana, mostraram raras formas arredondadas. Postos, entretanto, em temperatura ambiente, a 20-25°C, apresentaram, 48 horas após, abundante crescimento. Repiques a 10-12°C, ao fim de 3 dias, denotam multiplicação discreta, maior, entretanto, do que a 6°C. De 15 até 37°C, o crescimento nos tubos repicados é exuberante, em 24-48 horas.

A temperatura mais elevada que esses organismos toleram está em torno de 40-42°C, dado que repiques, mantidos nestas condições durante 9 dias, quando colocados em temperatura favorável, dão crescimento escasso e irregular.

Procurando estudar a influência do oxigênio sobre o desenvolvimento daquelas amebas, adicionamos a tubos de cultura, após repique, uma camada de vaselina líquida, que condiciona uma relativa anaerobiose. Embora não possamos ainda emitir uma opinião definitiva, nossos estudos levam a crer que, nestas condições, o crescimento é dificultado.

### *Resistência das amebas em cultura*

As duas amebas atrás referidas, tipo *Hartmannella* e tipo *Endamoeba*, desenvolveram-se satisfatoriamente, associadas, nos repiques sucessivos. Entretanto, ao cabo de 7 meses, a *Hartmannella* foi escasseando, tornando-se a cultura pura de *E. moshkovskii*, que, até o presente (2 anos) vem sendo mantida em boas condições. É interessante assinalar que, apesar de sua resistência à dessecção e ao tempo, parece que a *Hartmannella* foi afetada no seu desenvolvimento pela concorrência vital da *E. moshkovskii*, que, ao contrário, associada ou não, sempre cresceu com exuberância. A resistência desta última pode ainda ser avaliada pelo fato de já a têmos fornecido em tubos de cultura a alguns investigadores (Profs. Hoare, Inglaterra; Faust, Estados Unidos; e Neghme, Chile), tubos às vezes transportados durante semanas em condições precárias, o que, entretanto, não impediu o êxito de repicagens posteriores, de acôrdo com os informes enviados por aquêles pesquisadores. Igualmente, dilatado prazo entre as repicagens não interfere na vitalidade da endameba, pois, às vezes, as realizamos cada 3-4 semanas.

### *Tentativa de inoculação em cobaia*

Procuramos ainda estudar a possibilidade de instalar a *E. moshkovskii* no intestino de animais de laboratório. Escolhemos para isso cobaias, que eram inoculadas intracecalmente de acôrdo com a técnica descrita por Carrera & Faust (1949). No momento da inoculação aspirava-se previamente material do ceco, que era examinado a fresco, sob coloração pela hematoxilina férrica e pelo processo de Faust et al. Esses exames revelaram a presença de flagelados (*Chilomastix intestinalis*, *Trichomonas caviae*), ciliados (*Balantidium caviae*) e, em uma só cobaia, um rizópode (*Endolimax caviae*). Um dos animais morreu no ato da inoculação, por acidente de anestesia. Os demais, em número de sete, foram sacrificados em intervalos variáveis após a inoculação, sacrifício feito às vezes por causa do estado precário da cobaia (deiscência da sutura da parede abdominal; extravasamento de fezes na cavidade peritoneal, pelo orifício de inoculação; supuração, etc.). O conteúdo cecal era então examinado pelo processo direto, sob coloração pela hematoxilina férrica e pela cultura, com a finalidade de verificar a presença da ameba inoculada. Esse exame mostrou trofozoítos de *E. moshkovskii*, unicamente em 3 cobaias sacrificadas 20, 24 e 48 horas após a inoculação. As demais, examinadas tôdas após 48 horas, não revelaram êsse organismo pelos métodos já indicados. Dos animais sacrificados foi retirado um fragmento do ceco, da área de inoculação, para posterior exame histo-patológico, exame que nunca evidenciou qualquer lesão.

Os trabalhos de inoculação dessa endameba em cobaia continuam em andamento. Resultados mais pormenorizados serão apresentados em futura comunicação. As limitadas observações que realizamos até o presente, levam-nos a supor que a *E. moshkovskii* não produz lesão e nem se localiza no intestino da cobaia.

### *Pesquisa da E. MOSHKOVSKII em fezes humanas*

Dada a disseminação dessa endameba na natureza, aventamos a hipótese de o homem ingerir seus cistos que, embora não viessem a desenvolver-se no in-



testino, poderiam por êle transitar, ser eliminados íntegros, e falsear os resultados de exames coprológicos, dada a sua semelhança morfológica com os de *E. histolytica*. Já iniciamos estudos com a finalidade de pesquisar tais cistos em fezes humanas. Para tal, temos cultivado cistos de portadores de amebas. As sementeiras são feitas com fezes *in natura* ou após lavagem e tratamento dos cistos pelo ácido clorídrico normal, conservadas as culturas em temperatura ambiente, pôsto que a *E. moshkovskii* cresce satisfatòriamente em tais condições. Até o presente, examinamos, por êsse meio, fezes de 16 pacientes, não conseguindo desenvolvimento daquela endameba. Em 2 casos, houve crescimento de um rizópode com as características morfológicas de *Hartmannella* (fig. 8).

Considerando a grande importância epidemiológica dêsse assunto, continuamos tentando isolar a *E. moshkovskii* de fezes humanas.

#### DISCUSSÃO

As observações que vimos fazendo sôbre essa ameba semelhante à *E. histolytica*, encontrada em material de esgôto, confirmam nossa comunicação ao VII Congresso Brasileiro de Higiene de que tal organismo é uma nova espécie de endameba de vida livre que se assemelha à descrita, na Rússia, por Tshalaia (*E. moshkovskii*).

Compreende-se que a validade desta espécie, como já vimos anteriormente, tenha sido considerada com certa reserva por Hoare (1943) que admitiu a hipótese de ter Tshalaia trabalhado com a *E. histolytica*, com a *E. ranarum* ou com ambas.

Nossas investigações permitiram, entretanto, excluir com segurança a possibilidade de têmos isolado, quer a *E. histolytica* quer a *E. ranarum*. Aquela foi excluída, porque suas exigências culturais estão em absoluto desacôrdo com as da endameba por nós isolada que se mantém com grande facilidade a 15°C e até mesmo em temperaturas mais baixas, como já assinalamos. É verdade que a *E. histolytica* pode ser cultivada em temperatura relativamente baixa, mas nunca nos níveis observados para a *E. moshkovskii*. De fato, Wright et al. (1942) conseguiram o desenvolvimento da *E. histolytica*, durante 3 dias, a cêra de 22°C. Nós mesmos temos conseguido cultivá-la, precàriamente porém, a 25°C, pelo espaço de seis dias. Além dêsse fato, afastamos ainda a hipótese de se tratar da *E. histolytica*, em virtude dos resultados de inoculação negativos em cobaia, animal que é altamente sensível a essa ameba, quando inoculado por via cecal, conforme verificaram Carrera & Faust (1949) e Taylor et al. (1950).

Quanto à *E. ranarum*, pudemos excluí-la com mais segurança do que Tshalaia que trabalhou com esgôto de uma metrópole como Moscou, o qual recebe os resíduos do Parque Zoológico da cidade, ao passo que nós dispusemos em um dos casos de material de uma pequena estação de tratamento (Educandário D. Duarte), que serve a uma coletividade fechada, constituída por 700 pessoas, e livre de contaminação por dejeções de batráquios.

No que se refere à ação da temperatura sôbre essa endameba de esgôto, nossos estudos confirmam os de Tshalaia.

Do ponto de vista morfológico, êste autor refere que, em cultura, encontrou indivíduos multinucleados até com 32 núcleos, fato que está em absoluto desacôrdo com as nossas observações, que já datam de 2 anos, pois os trofozoítos

de nossas culturas são uninucleados e excepcionalmente bi e tetranucleados. Não encontramos também as formas metacísticas com 8 núcleos, a que se refere aquele autor. Apesar destas discordâncias, nossas pesquisas confirmam as de Tshalaia no tocante a tratar-se de uma endameba morfológicamente semelhante à *E. histolytica* e à *E. ranarum*, mas biologicamente diversa, o que justifica a criação de uma nova espécie (*E. moshkovskii*). Este fato tem importância, visto como até o presente as espécies do gênero *Endamoeba* eram consideradas parasitárias, ao passo que a nova espécie é de vida livre.

As relações entre a *E. moshkovskii* e a *E. histolytica* permanecem ainda obscuras.

Fato importante que deve estar sempre presente ao laboratorista quando da pesquisa de amebas humanas, é a possibilidade de diagnóstico de *E. histolytica* por *E. moshkovskii*, principalmente em material exposto ao tempo, na natureza, dada a grande ubiquidade desta última, conforme vem sendo verificado por estudos já comentados, e pela impossibilidade de se fazer o diagnóstico diferencial apenas pelos caracteres morfológicos. Em tais circunstâncias, tornam-se indispensáveis provas de natureza biológica, já assinaladas no texto deste trabalho.

#### RESUMO E CONCLUSÕES

Os autores analisam os trabalhos publicados na Rússia, Estados Unidos e Inglaterra, sobre uma endameba (*E. moshkovskii*), morfológicamente semelhante à *E. histolytica*, e isolada de esgoto e de águas servidas, naqueles países.

Os autores que, em 1948, já haviam isolado a *E. moshkovskii* de lodo digerido de esgoto de uma das estações de tratamento da cidade de São Paulo, Brasil, retomaram suas investigações, tendo encontrado novamente aquela endameba em material oriundo de 2 outras unidades de tratamento de esgoto da mesma cidade. Ao lado desta *Endamoeba*, desenvolveu-se nas culturas uma *Hartmannella*. Verificaram que ambas se cultivam em temperaturas variando entre 6 e 42°C, sendo, entretanto, que o melhor desenvolvimento se dá entre 15 e 37°C.

De lodo digerido com 78,5% e 41% de umidade os autores isolaram a *Endamoeba* e a *Hartmannella*. Entretanto, quando o grau de umidade foi reduzido a 9%, apenas crescia esta última, o que foi igualmente observado com lodo contendo 7,3% de umidade e conservado no laboratório há 4 anos. Apesar da resistência desta *Hartmannella* à dessecação e ao tempo, ela foi afetada em sua vitalidade, quando associada à *E. moshkovskii*, pois ao cabo de cerca de 7 meses de repicagens sucessivas, desapareceu das culturas.

Um relativo grau de anaerobiose provocada no meio de cultura parece dificultar a multiplicação das duas referidas amebas.

Os autores tentaram a implantação da *E. moshkovskii* em cobaias por meio de injeção intra-cecal de cultura, tendo encontrado trofozoítos no conteúdo desse segmento intestinal apenas nos animais sacrificados até 48 horas após a inoculação. O exame histo-patológico de fragmentos do ceco das cobaias inoculadas não revelou qualquer lesão.

Tendo sido considerada pelos autores a hipótese de o homem ingerir acidentalmente cistos de *E. moshkovskii* e posteriormente eliminá-los com as fezes (fato que viria falsear resultados de inquéritos coprológicos, dada a impossibilidade de distinção morfológica com a *E. histolytica*), tentaram isolar de fezes



humanas aquela endameba de vida livre. Para tal, as culturas, com material de eliminadores de cistos, eram conservadas em temperatura ambiente, pôsto que nessas condições o desenvolvimento da *E. moshkovskii* se faz satisfatòriamente. Os resultados até o momento têm sido negativos. Em 2 casos, entretanto, de 16 estudados, houve crescimento de uma ameba de vida livre do gênero *Hartmannella*.

Os autores puderam excluir com segurança a hipótese de ser a endameba por êles isolada a *E. histolytica* ou a *E. ranarum*.

Finalmente, chamam a atenção dos analistas e epidemiologistas para que, nos casos de pesquisa de *E. histolytica* em material exposto ao tempo na natureza, tenham presente a possibilidade de contaminação pela *E. moshkovskii*, dada sua grande ubiquidade, pôsto que tem sido assinalada em águas de poços, de rios e de esgotos. Em tais circunstâncias, as dúvidas podem ser afastadas pelas provas de natureza biológica, já que morfológicamente não é possível fazer o diagnóstico diferencial entre os cistos e trofozoítos da *E. histolytica* e os da *E. moshkovskii*.

#### SUMMARY AND CONCLUSIONS

*New studies on amebae found in sewage with special reference to an ENDAMOEBEA (E. MOSHKOVSKII) which is similar to E. HISTOLYTICA.*

The authors analyse the publications issued in Russia, U.S.A. and England about an endameba (*E. moshkovskii*), which is morphologically similar to *E. histolytica* and which has been isolated from sewage and used water in those countries.

The authors who, in 1948, had isolated that protozoan from digested sludge in one of the sewage treatment plants of S. Paulo, Brazil, continued their studies having found this *Endamoeba* again in material from two other sewage treatment plants in that city. With endameba, an ameba similar to *Hartmannella* genus developed in the cultures. They observed that both are cultivated in temperatures ranging from 6 to 42°C but that an optimum is reached between 15 and 37°C.

From digested sludge with 78.5% and 41.0% of humidity the authors isolated the *Endamoeba* and the *Hartmannella*. When humidity was lowered to 9% only this last organism was found and was also observed in material with 7.3% humidity kept in the laboratory for 4 years. Although this *Hartmannella* resisted dessication and time it was affected in its vitality when associated with *E. moshkovskii* because at the end of 7 months of successive passages it disappeared from cultures.

Relative anaerobiosis in the culture media seem harm the multiplication of these 2 amebae.

The authors tried to inoculate guinea pigs with *Endamoeba* with intra-coecal culture injections, having found trophozoites on the intestinal contents only in the animals killed up to 48 hours after inoculation. The histopathological exam of fragment of coeca of the inoculated guinea pigs did not show lesions.

The authors considered the fact that man can accidentally swallow cysts of *E. moshkovskii* and eliminate them with the stools a process which might

interfere in the diagnosis of stool exams due to the impossibility of a morphological separation between this species and *E. histolytica*. For this reason, the authors tried to isolate, from human stools that free living *Endamoeba*. They preserved at room temperature the cultures with material from cysts passers, because in such conditions the development of *E. moshkovskii* is satisfactory. Results have been negative to date. In two cases (of the 16 studies), there was growth of a free living ameba of the genus *Hartmannella*.

The authors were able to exclude the hypothesis that the endameba from sewage was *E. histolytica* or *E. ranarum*.

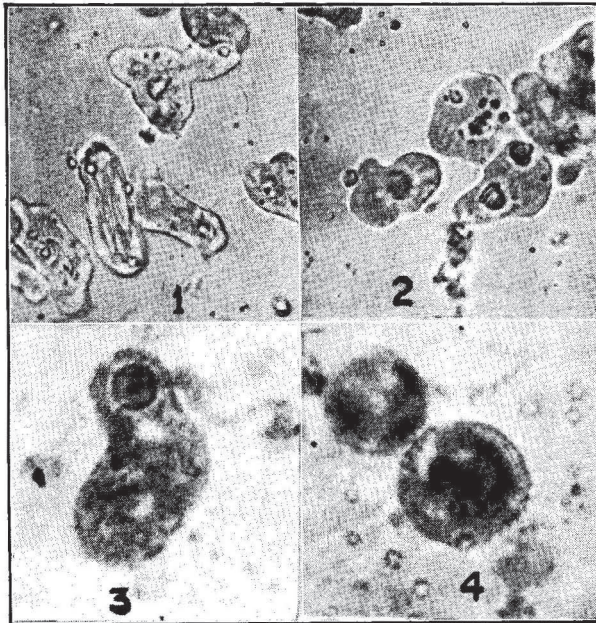
Finally, they call attention of analysts and epidemiologists to, when investigating *E. histolytica* from exposed material keep in mind the possibility of contamination by *E. moshkovskii* due to its ubiquity for it has been found in well water, rivers and sewage. In such doubtful cases biological tests can be made because morphologically it is impossible to make a differential diagnosis between cysts and trophozoites of *E. histolytica* and *E. moshkovskii*.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Amaral, A. D. F.: 1945. — Nova modificação em meio de cultura para *Endamoeba histolytica*. An. Fac. Med. Univ. São Paulo, 21:175.
2. Amaral, A. D. F. & Azzi Leal, R.: 1948. — Sobre uma endameba semelhante à *Endamoeba histolytica*, encontrada em material de esgoto. Contribuição apresentada ao VII Congresso Brasileiro de Higiene (S. Paulo, Dez., 1948). Rev. Paul. Med., 34(3):173-176, 1949. Anais do VII Congresso Brasileiro de Higiene, vol. 2.º, pg. 847-850. São Paulo.
3. Carrera, G. M. & Faust, E. C.: 1949. — Susceptibility of the Guinea-pig to *Endamoeba histolytica* of human origin. Am. J. Trop. Med., 29(5):647-667.
4. Gnezdilov: 1947. — Med. Parasitol. (Moscou), 16(4):13 (em russo). Cit. in Tshalaia (10).
5. Gordon, E.: 1941. — Purification of sewage from cysts of intestinal protozoa. Med. Parasit. a. Parasitic Dis. (Moscou), 10(2):236-243 (em russo). Lido só o resumo in Trop. Dis. Bull., 40(4):311, 1948.
6. Hoare, C. A.: 1943. — Comentários aos trabalhos de Gordon (5) e Tshalaia (9). Trop. Dis. Bull., 40(4):311.
7. Neal, R. A.: 1950. — A species of *Entamoeba* from sewage. Tr. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg., 44(1):9.
8. Taylor, D. J., Greenberg, J., Highman, B. & Coatney, G. R.: 1950. — Experimental infection of Guinea-pigs with *Endamoeba histolytica*. Am. J. Trop. Med., 30(6):817-827.
9. Tshalaia, L. E.: 1941. — A species of *Entamoeba* detected in sewage. Med. Parasit. a. Parasitic Dis. (Moscou), 10(2):244-252 (em russo). Lido só o resumo in Trop. Dis. Bull., 40(4):311-312, 1948.
10. Tshalaia, L. E.: 1947. — Contribution of the study of *Entamoeba moshkovskii*. Med. Parasitol. (Moscou), 16(4):66-69 (em russo). Lido só o resumo in Abstracts of World Med., 4(1):110, 1948.
11. Wright, W. H., Cram, E. B. & Nolan, M. O.: 1942. — Preliminary observations on the effect of sewage treatment processes on the ova and cysts of intestinal parasites. Sewage Works J., 14(6):1274-1280.



MICROFOTOS DE AMEBAS EM CULTURA (Originalis)



Figs. 1 e 2 — Cultura de *E. moshkovskii* Tshalaia, 1941. Trofozoítos a fresco (x 1000). Figs. 3 e 4 — Trofozoítos de *E. moshkovskii*, com 1 núcleo (x 1400) and two nucleos (x 1200). Col. hematoxilina férrica.

Fig. 1 and 2 — Trophozoites of *E. moshkovskii* Tshalaia, 1941, in culture. Unstained preparation (x 1000). Fig. 3 and 4 — Trophozoites of *E. moshkovskii* containing one nucleus (x 1400) and two nuclei (x 1200). Stained with Iron Hematoxylin.

Figs. 5 e 6 — Cistos de *E. moshkovskii* (x 1200). Col. hematoxilina férrica. Fig. 7 — Trofozoito de *Hartmannella*, isolada de lodo digerido de esgôto (x 1400). Col. hematoxilina férrica. Fig. 8 — Trofozoito de *Hartmannella*, isolada de fezes humanas (x 1400). Col. hematoxilina férrica.

Fig. 5 and 6 — Cysts of *E. moshkovskii* (x 1200). Stained with Iron Hematoxylin. Fig. 7 — Trophozoite of *Hartmannella* isolated from digested sludge of sewage (x 1400). Stained with Iron Hematoxylin. Fig. 8 — Trophozoite of *Hartmannella* isolated from human feces (x 1400). Stained with Iron Hematoxylin.

