

ESTUDOS SOBRE A *ENTAMOEBIA MOSHKOVSKII*. II — NOVOS FOCOS EM DIVERSOS TIPOS DE COLEÇÕES HÍDRICAS NO BRASIL E NO URUGUAI

Edward FÉLIX-SILVA (1) e Wilson MAYRINK (1)

RESUMO

Examinando 129 coleções de água (ou lodo) de 28 localidades do Brasil e uma do Uruguai, foram isoladas 46 amostras de *E. moshkovskii* em nove localidades do Pará, Goiás, Minas Gerais e Distrito Federal e na do Uruguai. Ampliou-se assim o conhecimento da distribuição geográfica dessa ameba, anteriormente achada em São Paulo. Contrariando a noção mais corrente de que a presença da *E. moshkovskii* está ligada à contaminação por esgotos, ela foi encontrada em coleções de tipos os mais diversos, como córregos e ribeirões, igarapés e arroios, rios, mananciais, nascentes, lagoas e cisternas, além de um bueiro atingido por esgoto e uma estação de tratamento de esgotos; eram coleções de água corrente ou parada, límpida ou turva, sombreada ou ensolarada, rasa ou profunda, com alta, moderada ou baixa poluição, e até em lugares de população muito esparsa, assim como em depósitos aparentemente sem possibilidade de contaminação por detritos humanos.

INTRODUÇÃO

No período de mais de trinta anos decorridos desde que ela foi primeiro descoberta e descrita por TSHALAIÁ²¹ na Rússia, em 1941, e que precederam as nossas pesquisas, a *Entamoeba moshkovskii* vem sendo assinalada em várias partes do mundo, inclusive no Brasil, onde foi encontrada em duas ocasiões, ambas em São Paulo. Na grande maioria das vezes ela fora achada em áreas urbanas densamente povoadas e em águas altamente poluídas por esgotos.

Na Tabela I apresentamos uma lista de países, localidades e tipos de coleções líquidas onde a *Entamoeba moshkovskii* fora anteriormente achada, bem como dos Autores que a encontraram.

Desejando melhor conhecer a distribuição geográfica e a prevalência desse protozoário

em nosso País e averiguar se seria real a sua aparente preferência por criadouros muito poluídos, resolvemos procurá-la em amostras de água e lodo de localidades brasileiras distribuídas desde o Amazonas até o Rio Grande do Sul, abrangendo coleções hídricas de tipos muito diversos, quanto a correnteza, sombreamento, tamanho, profundidade, vegetação e, principalmente, grau de poluição. Prolongamos uma das viagens feitas com essa finalidade para examinar algumas coleções de água no Uruguai. Parte das pesquisas que realizamos no Estado de Minas Gerais e no Brasil Central foi divulgada em publicações precedentes FÉLIX-SILVA^{6, 7, 8}, mas no presente artigo damos os resultados de todas as investigações que fizemos sobre o tema, até o momento.

Trabalho realizado no Departamento de Zoologia e Parasitologia do ICB, U.F.M.G. em parte com auxílio proveniente da FUNTEC-BNDE e CPq-UFMG e Fundação de Amparo à Pesquisa Parasitológica.

(1) Professores do Departamento de Zoologia e Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da U.F.M.G. Caixa Postal 2486, 30.000 — Belo Horizonte — Minas Gerais, Brasil

MATERIAL E MÉTODOS

Localidades trabalhadas

Entre 1964 e 1972, procuramos a *E. moshkovskii* em localidades dos Estados do Amazonas, Pará, Maranhão, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e do Distrito Federal.

A maioria das amostras proveio de Minas Gerais onde examinamos coleções hídricas dos Municípios de Almenara, Alvinópolis, Belo Horizonte, Betim, Boa Esperança, Divinópolis, Formiga, Lavras, Nepomuceno, Oliveira, Ouro Preto, Pedro Leopoldo, Teófilo Otoni e Três Marias. No Amazonas trabalhamos em Manaus; no Pará em Altamira, Mosqueiro e na Estrada Belém-Brasília; no Maranhão, em Estreito; em Goiás os Municípios onde trabalhamos foram Aragarças, Brejinho do Nazaré e Babaçulândia; em Mato Grosso, Barra do Garça; em Santa Catarina, Tubarão; no Rio Grande do Sul, Osório, Pelotas e Santa Vitória; e no Distrito Federal, Brasília. Obtivemos ainda uma amostra numa localidade do Uruguai, Arroyo de la Boyada, no quilômetro 92 da Rodovia Montevideu-Colônia (Tabela II e Mapas 1 e 2).

Tipos de coleções líquidas examinadas

Tentativas de isolamento de *E. moshkovskii* foram por nós realizadas em diversas amostras de água e, principalmente, de lodo, provenientes de córregos, ribeirões, igarapés, arroios, cisternas, lagoas, lagos, nascentes, poços artesianos, tanques abertos, mananciais, estações de tratamento d'água e rios. Mencionamos a seguir a localização de cada um desses tipos de coleção da água e as condições em que as examinamos.

Os *córregos* e *ribeirões* inspecionados eram de tipo muito diverso, de pequeno ou grande volume, de água pouco corrente ou com bastante correnteza, com muita ou pequena vegetação nos leitos, estes sendo cobertos de pedregulho ou de terra lodacenta. Para efeito deste trabalho, foram classificados considerando a vazão dos efluentes, o volume dos esgotos neles lançados e o aspecto das suas águas em três tipos distintos: alta, média e baixa poluição.

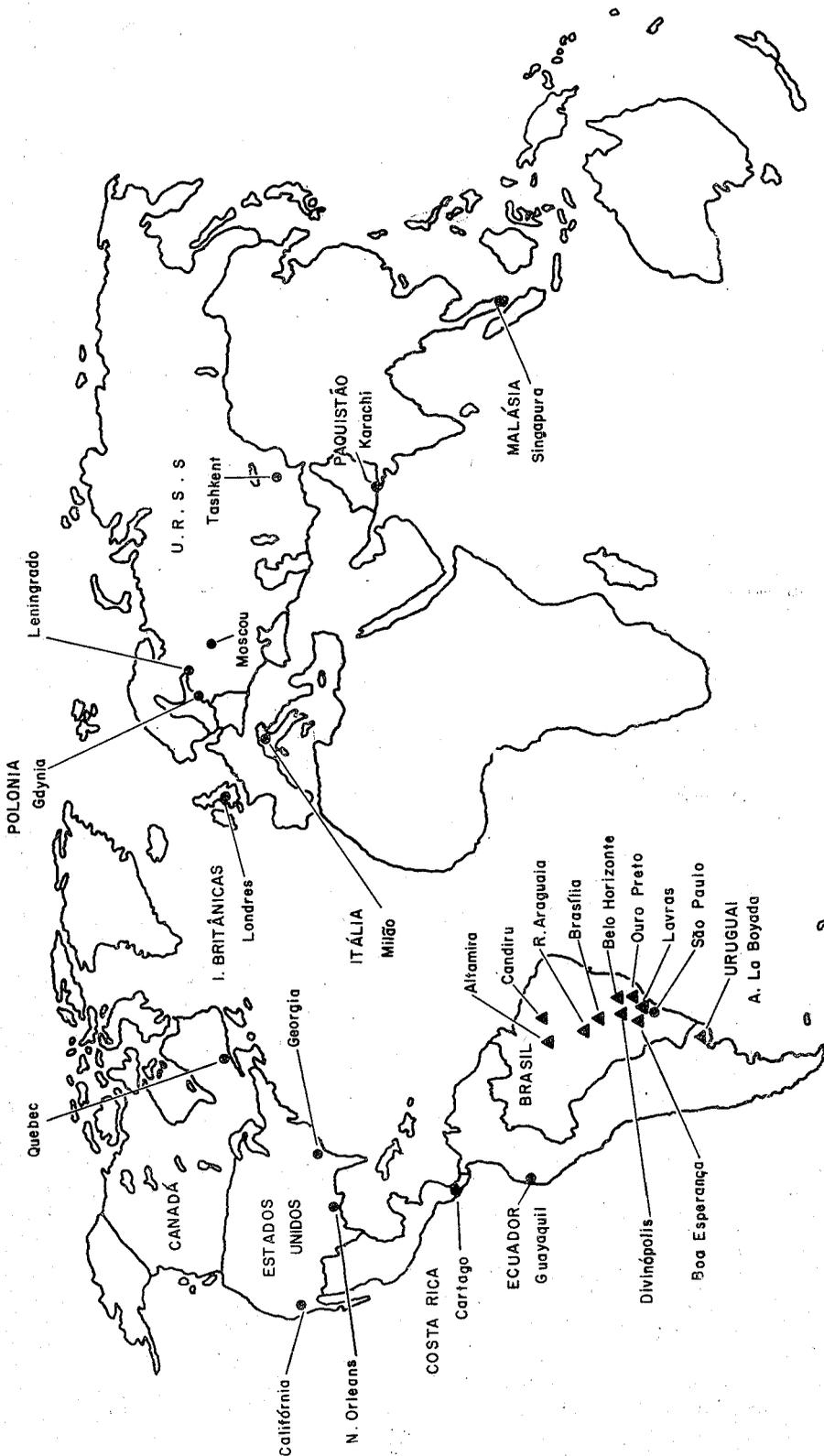
A maioria dos *igarapés* possuem águas claras, corrente ou levemente represada; são

ricos em matéria orgânica, nascendo no interior da floresta e passando por regiões sombrias. A possibilidade de sua contaminação por esgotos é extremamente remota, pois se localizam em região pioneira, ainda em desbravamento. A largura e o volume de suas águas são muito variáveis, a maioria tendo mais de cinco metros de largura e, às vezes, mais de dez metros.

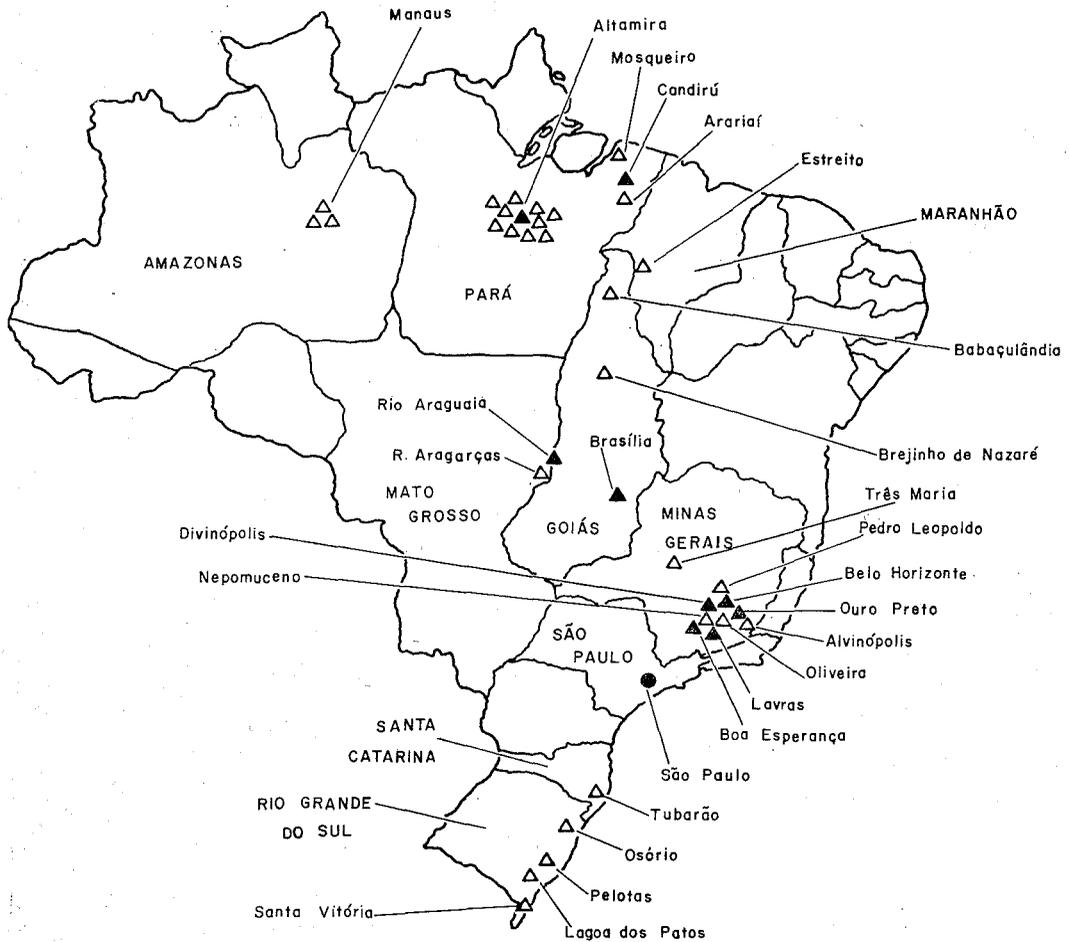
Dos quatro *arroios* estudados, um se situa no Uruguai, cortando a rodovia que liga Montevideu a Colônia, podendo ser considerado de alta poluição. Os outros três se situam no Estado do Rio Grande do Sul; todos eles são utilizados para irrigação, possuindo água clara, corrente, com bastante matéria orgânica, parecendo pouco provável a sua contaminação por esgotos.

Examinamos 13 *rios* situados em diferentes regiões do País. No Rio São Francisco, as amostras foram obtidas próximo a Três Marias, Estado de Minas Gerais; nos Rios Garças e Araguaia, entre Mato Grosso e Goiás, próximo às cidades de Barra do Garças e Aragarças; no Rio Crixas, Município de Brejinho do Nazaré e no Rio Lages, Município de Babaçulândia, ambos no Estado de Goiás; no Rio Tocantins, na divisa entre os estados de Goiás e Maranhão, próximo à cidade de Estreito; nos Rios Araiaí, Pau Amarelo e das Balsas e no Rio Xingu, Município de Altamira, todos no Estado do Pará; nos Rios Negro e Solimões, no Estado do Amazonas; e finalmente no Rio Cajado, próximo à cidade de Tubarão, em Santa Catarina. Na sua maioria, esses rios são muito volumosos, situando-se entre os mais caudalosos do País. Em geral possuem água clara ou barrenta, raramente turva como o Rio Cajado. Quanto à poluição por esgotos, o Rio Cajado poderá ser classificado como de "alta poluição", pois, sendo relativamente pouco volumoso, atravessa região densamente povoada e recebe esgotos de cidade; o São Francisco é de "média poluição"; os demais foram considerados de "baixa poluição", em vista de seu grande volume de água e por percorrerem regiões de baixa densidade populacional.

Foram investigados também quatro *mananciais* do interior do Estado de Minas Gerais, que servem para abastecimento de água às cidades de Alvinópolis, Pedro Leopoldo, Divinópolis e Boa Esperança. Não recebem



MAPA I — Focos de *Entamoeba moshkovskii*: ● = encontrados por outros pesquisadores; ▲ = encontrados pelo Autor.



MAPA 2 Localidades onde o Autor procurou *Entamoeba moshkovskii* no Brasil.

- △ = com resultado negativo
- ▲ = com resultado positivo
- = foco encontrado por Amaral & Leal.

esgotos, sendo considerados de “baixa poluição”, embora sujeitos a contaminação por animais.

Sete *nascentes* foram examinadas, sendo o material, na maioria das vezes, coletado junto ao brotamento da água, sem possibilidade de contaminação direta por dejetos humanos, embora expostas a contaminação por pequenos animais e sujeitas à poluição atmosférica. Das nascentes, duas estão localizadas em Belo Horizonte, quatro em Ouro Preto e

uma em Boa Esperança. Exames colimétricos de amostras de água de cinco delas revelaram colimetria elevada em uma situada em Belo Horizonte, no Bairro de Carlos Prates, e colimetria baixa nas quatro de Ouro Preto, embora numa das nascentes da Rodovia dos Inconfidentes, em Ouro Preto, se apresentasse com colimetria positiva, com duas colônias do tipo coliformes.

Foram estudados sete *lagos* e três *lagos*. Das primeiras três se situam em Belo Hori-

zonte, uma em Larvas, e outra em Oliveira, cidades de Minas Gerais; as duas restantes ficam no Estado do Rio Grande do Sul, sendo uma Lagoa dos Patos e outra localizada próximo a Osório. Destas lagoas, seis são de formação natural e uma resultante do represamento artificial de um córrego. Somente duas delas, recebem esgotos: a Lagoa do Eldorado, à qual afluem esgotos de residências através de um córrego, e que foi considerada de “média poluição”; e a Lagoa dos Patos, que, embora receba esgotos, dado o seu grande tamanho e o volume de água, deve ser encarada como de poluição relativamente pequena. Dos três lagos, todos de formação artificial, um é situado em Belo Horizonte — o lago da Pampulha, um em Brasília — o lago de Paranoá e o outro no sul de Minas Gerais — o lago de Furnas; todos recebem esgotos, mas, em vista do volume de suas águas, sua poluição é relativamente pequena em relação a dos córregos que recebem grandes esgotos.

Cinco *poços artesianos* estudados, situados em Belo Horizonte, tanto pela ausência de esgotos como pela colimetria, foram considerados de “baixa poluição”.

Foram examinadas 39 cisternas, das quais 36 em Belo Horizonte e três em cidades do interior do Estado de Minas Gerais. Para avaliação do seu índice de poluição, levamos em consideração o exame bacteriológico das águas, visando demonstrar a incidência do grupo coliforme. A colimetria foi realizada em 33 cisternas. Para efeito de sua classificação adotamos o seguinte critério:

“baixa poluição” — com índice colimétrico variando de 0 a 10 N.M.P. de coliformes; “média poluição” — de 11 a 240 coliformes; “alta poluição” — acima de 240 N.M.P. de coliformes em 100 ml de água.

Foram ainda estudadas amostras provenientes de seis *tanques abertos*, cimentados, situados em Belo Horizonte, e não contaminados por esgotos, sendo portanto, de “baixa poluição”.

Ao *bueiro pluvial*, situado em Divinópolis, foi atribuída “alta poluição”, por ser resultante de vazamento de esgoto, possuir água turva e escura e apresentar índice colimétrico alto. Na mesma categoria foi classificada a estação de tratamento de esgoto de Brasília.

Amostras de água foram colhidas de duas *estações de tratamento* de água, uma situada em Belo Horizonte e outra em Boa Esperança, interior de Minas Gerais, classificadas como de “baixa poluição”. De ambas foram obtidas três amostras: no filtro, no tanque de sedimentação e no reservatório.

Embora não possamos perceber diferenças nítidas entre córregos, ribeirões, igarapés e arroios e entre lagos e lagoas, preferimos manter neste trabalho, essas designações, por serem as que lhes são atribuídas localmente.

Natureza do material colhido para exame

O material colhido foi constituído principalmente por água, lodo e terra lodocenta. Nos córregos, procuramos obter de preferência o material com aspecto de lodo fino, depositado no fundo, nas margens ou sobre a vegetação. Quando não existia lodo com o aspecto descrito, coletávamos, preferentemente, terra lodosa e água do fundo e das margens.

As amostras foram obtidas com uma concha de haste longa, perfurada acima da região mediana, que permitia a raspagem e ao mesmo tempo a retirada do material com pouca água. Este era colocado em frascos de vidro de boca larga, sendo o material recoberto com água colhida no próprio local. Os frascos eram transportados ao laboratório e deixados em repouso. Foram plantadas amostras das três camadas.

Técnica de isolamento e manutenção da E. moshkovskii

No laboratório, o material colhido era homogeneizado e deixado sedimentar no próprio frasco, apresentando-se geralmente, ao fim de poucas horas, com três camadas: no fundo, o lodo ou a terra mais densa, juntamente com grânulos de areia; logo acima, uma camada pouco mais fina, ainda constituída por lodo; e, finalmente, uma camada superior pouco volumosa, de lodo fino. Após um período de três a quatro horas, o material de cada camada era examinado entre lâmina e lamínula, a fresco e após coloração pelo lugol, para pesquisa de trofozoítos e cistos de *E. moshkovskii*.

Uma pequena porção de 0,5 a 1 ml do sedimento constituído das três camadas era inoculada diretamente em tubos de ensaio com meios de cultura (Fase I). Uma segunda fração do material sedimentado era depois retirada do frasco, homogeneizada e filtrada em gaze dobrada em quatro e colocada em provetas de 1000 ml, completando-se o volume com água de torneira procedente de poço artesiano isento de *E. moshkovskii*, deixando-se sedimentar o material por 24 a 48 horas. Neste intervalo, procedia-se a duas lavagens do material com água de torneira, sendo parte deste sedimento lavado e semeado em tubos de cultura (Fase II).

Uma parte deste sedimento lavado, denominada segunda fração, era transportada para tubos de centrifugação e novamente lavada e enriquecida por centrifugações sucessivas, com três trocas de água. O sedimento assim obtido era semeado em tubos com meios de cultura (Fase III).

A quarta fração, resultante do sedimento lavado e sedimentado na proveta, era transportada para tubos de centrifugação e o sedimento era tratado com solução 0,5 N de HCl durante 15 minutos, seguindo-se três lavagens com água de torneira ou solução fisiológica, para eliminação do ácido clorídrico. O sedimento assim obtido era inoculado em meios de cultura (Fase IV).

Os tubos inoculados eram colocados à temperatura ambiente e a 37°C.

Um esquema da técnica de isolamento pode ser visto na Fig. 1.

As amostras de *E. moshkovskii* foram isoladas e cultivadas, inicialmente, em meio difásico conforme LAMY¹⁴, em tubos de ensaio contendo 5 a 10 ml de meio. Os repiques foram realizados em intervalos variando de três a 26 dias; mais frequentemente entre o 6.º e o 12.º dias. A 37°C os repiques foram feitos entre o 3.º e o 4.º dias, devido ao crescimento da flora bacteriana mista.

O meio difásico foi por nós utilizado por cerca de 90 dias; posteriormente usamos o meio de PAVLOVA¹⁸, modificado por JONES¹¹ e DE CARNERI³ e com alterações já mencionadas. Os repiques foram feitos paralelamente ao meio difásico, até comprovação do bom crescimento das amebas.

Aos meios acima descritos adicionamos 200 unidades de penicilina, 0,1 g de estrepto-

micina e aproximadamente 2 mg de amido de arroz, "Matarazzo", por mililitro de meio.

No laboratório, em temperatura ambiente, as amostras de *E. moshkovskii* foram mantidas em meio de Pavlova, em tubos contendo 5 a 10 ml do meio. As culturas foram geralmente repicadas entre o 6.º e o 9.º dias. Antes de serem repicadas, foram examinadas ao microscópio, para observação do comportamento das culturas em relação ao número de trofozoítos por campo microscópico, movimentação, encistamento, fagocitose de grânulos de amido, e, ainda, o desenvolvimento da flora bacteriana associada.

Consideramos positivas para *E. moshkovskii* as amostras contendo amebas tetranucleadas morfologicamente iguais à *E. histolytica* mas que, nas culturas, desenvolviam bem à temperatura ambiente e a 37°C.

RESULTADOS

Distribuição geográfica das amostras de E. moshkovskii encontradas

Como se vê na Tabela II, foram examinadas 129 coleções líquidas provenientes de 28 municípios de nove unidades federativas do Brasil e de uma localidade do Uruguai.

Encontramos a *E. moshkovskii* em 46 coleções (35,4%) provenientes de nove municípios brasileiros (32,2%) de três Estados (Pará, Goiás e Minas Gerais) e do Distrito Federal, bem como na localidade uruguaia (Tabela II e Mapas 1 e 2).

Minas Gerais foi o Estado de onde proveio a maior parte das amostras — 99 — das quais 41 foram positivas (41,4%); o município da Capital concorreu com a maioria das coleções examinadas — 75 — das quais 35 (46,7%) continham a *E. moshkovskii*; dos outros treze municípios mineiros trabalhados, foram colhidas apenas 24 amostras, das quais seis foram positivas, em quatro municípios.

No Pará, de 15 amostras obtidas em três municípios, duas, de dois municípios albergavam a *E. moshkovskii*.

Esta foi achada em uma coleção dentre três pesquisadas em três municípios de Goiás e numa dentre duas examinadas em Brasília, Distrito Federal.

TABELA I

Países e localidades onde a *Entamoeba moshkovskii* foi assinalada anteriormente,
por outros pesquisadores

País	Localidade	Tipo de coleção líquida	Autor e data
Brasil	São Paulo	Estação de tratamento de esgotos	AMARAL & LEAL ¹ , 1949
	" "	" " " " "	LEAL & AMARAL ¹⁵ , 1950
Canadá	Quebec	" " " " "	LACHANGE ¹³ , 1959
Costa Rica	Cartago	" " " " "	RUIZ ²⁰ , 1960
Equador	Guaiaquil	Esgoto	CONSTANTE ² , 1965
Estados Unidos	Califórnia, Louisiana e Geórgia	Estação de tratamento de esgotos	WRIGHT, CRAM & NOLAN ²³ , 1942
	Louisiana	" " " " "	JORDAN ²² , 1954
Inglaterra	Londres	" " " " "	NEAL ¹⁶ , 1950
	"	" " " " "	NEAL ¹⁷ , 1953
Itália	Milão	Canais de irrigação com ou sem esgoto	De CARNERI ⁴ , 1963
	"	Canais de irrigação e lagos	De CARNERI ⁵ , 1966
Malásia	Singapura	Estação de tratamento de esgotos	ZAMAN ²⁴ , 1962
Paquistão	Karachi	" " " " "	ZAMAN & SHAH BANO ²⁵ , 1967
Polônia	Gdynia	Estação de tratamento de esgotos e riacho com esgotos	HIRSCHLEROWA & SWIECICKI ¹⁰ , 1960
União Soviética	Moscú	Esgoto	TSHALAIA ²¹ , 1941
	Moscú e Minsk	Esgoto e rio	TSHALAIA ²² , 1947
	Leningrado	Esgoto	GNEZDILOV ⁹ , 1947
	Tshquent	Reservatórios e lagos	ROGOV ¹⁹ , 1958

FELIX-SILVA, E. & MAXRINK, W. — Estudos sobre a *Entamoeba moshkovskii*. II — Novos focos em diversos tipos de coleções hídricas no Brasil e no Uruguai. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 16: 203-221, 1974.

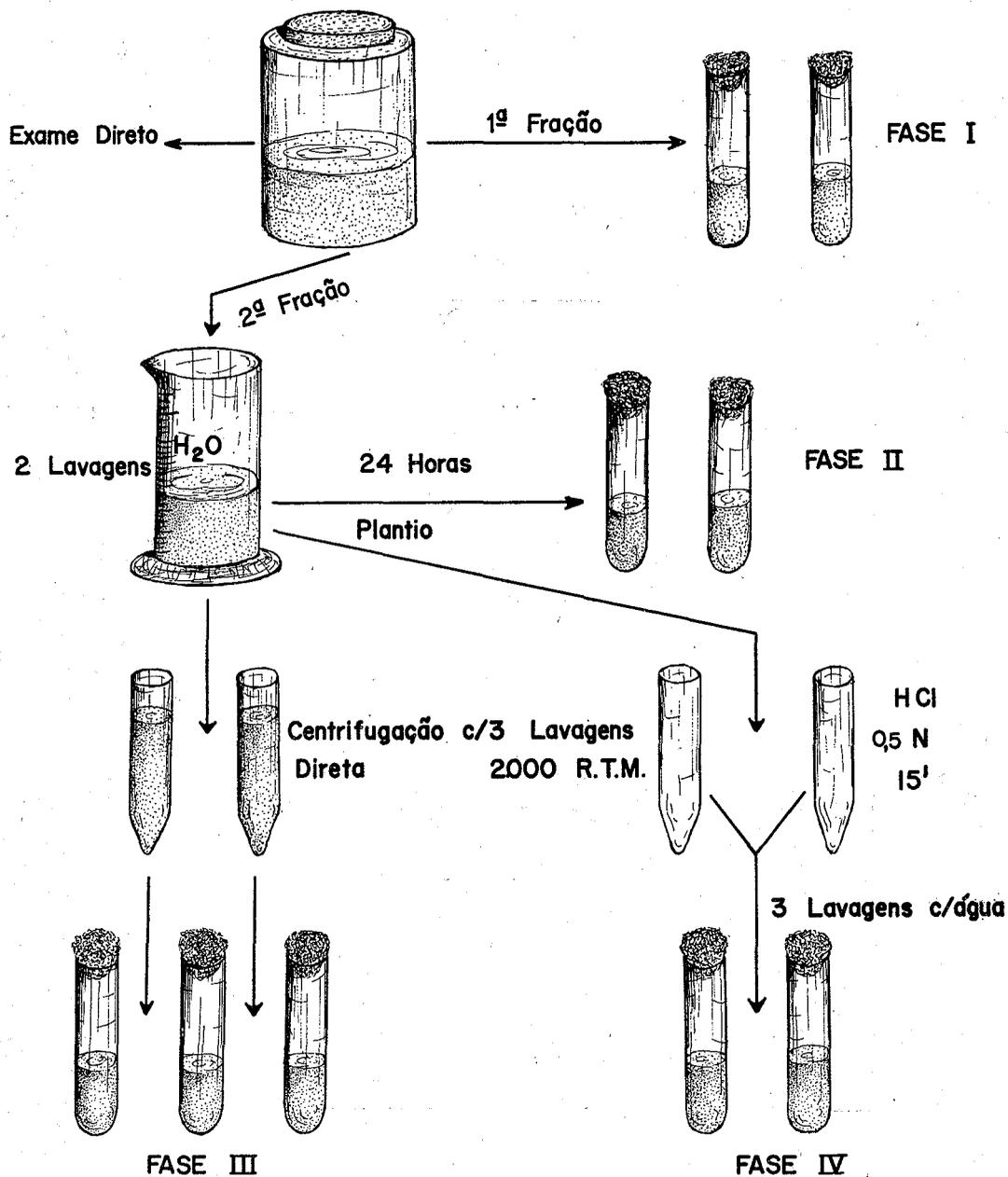


Fig. 1 -- Esquema da técnica de isolamento da *Entamoeba moshkovskii*

TABELA II

Resultado da pesquisa da *Entamoeba moshkovskii* efetuada pelo Autor em coleções líquidas, no Brasil, segundo os Estados e Municípios e numa localidade do Uruguai

País	Estado	Município	Coleções examinadas	Coleções positivas	
				N.º	%
Brasil	Amazonas	Manaus	2	—	—
	Pará	Altamira	11	1	9,1
		Mosqueiro	2	—	—
		Belém-Brasília — Km 85 a 140	2	1	50,0
	Maranhão	Estreito	1	—	—
	Goiás	Aragarcas	1	1	100,0
		Babaçulândia	1	—	—
		Brejinho do Nazaré	1	—	—
	Minas Gerais	Almenara	1	—	—
		Alvinópolis	1	—	—
		Belo Horizonte	75	35	46,7
		Betim	1	—	—
		Boa Esperança	8	2	25,0
		Divinópolis	2	2	100,0
		Formiga	1	—	—
		Lavras	1	1	100,0
		Nepomuceno	1	—	—
		Oliveira	1	—	—
		Ouro Preto	4	1	25,0
		Pedro Leopoldo	1	—	—
Teófilo Otoni		1	—	—	
Três Marias	1	—	—		
Mato Grosso	Barra do Garça	1	—	—	
Santa Catarina	Tubarão	1	—	—	
Rio Grande do Sul	Osório	2	—	—	
	Pelotas	2	—	—	
	Santa Vitória	1	—	—	
Distrito Federal	Brasília	2	1	50,0	
Uruguai	—	Rodovia Montevideo-Colônia — Km 92	1	1	100,0
TOTAL			130	46	35,4

No Uruguai, a única amostra examinada foi positiva.

Isolamento da E. moshkovskii em diversos tipos de coleções líquidas

Os resultados da pesquisa da *E. moshkovskii* segundo os tipos de coleções líquidas encontram-se resumidos nas Tabelas III e IV.

De 23 córregos e ribeirões examinados, 20 (86,9%) foram positivos; destes, 19 eram de Belo Horizonte e um de Boa Esperança, Minas Gerais. O exame direto do material colhido revelou cistos e trofozoítos morfológicamente semelhantes aos da *E. moshkovskii* em oito amostras (34,8%), das quais três foram positivas para trofozoítos (13,0%).

TABELA III

Resultado da pesquisa de *Entamoeba moshkovskii* efetuada pelo Autor, conforme o tipo de coleção líquida

Tipo de coleção líquida	Examinadas	Positivas	
		N.º	%
Córregos e ribeirões	23	20	86,9
Igarapés e Arroios	15	3	20,0
Rios	13	1	7,7
Mananciais	4	1	25,0
Nascentes	7	3	42,9
Lagos e Lagoas	10	4	40,0
Poços Artesianos	5	—	—
Cisternas	39	12	30,8
Tanques abertos	6	—	—
Bueiro pluvial com esgoto e estação de tratamento de esgoto	2	2	100,0
Estações de tratamento d'água (*)	6	—	—
Total	130	46	35,4

(*) Nas duas estações de tratamento de água foram colhidas 6 amostras, sendo 3 de cada, uma do tanque de sedimentação, outra do filtro e a última do reservatório já com água tratada.

No exame direto do material colhido nos 11 *igarapés* e nos quatro *arroios*, todos eles foram negativos para trofozoítos e somente um foi positivo para cistos: o do arroio La Boyada, situado no Uruguai. Pela cultura, dois *igarapés* se mostraram positivos: o *igarapé* de Candiru e o outro situado ao longo da Rodovia Transamazônica, próximo do Km 70 do trecho Altamira-Marabá.

Pela cultura das amostras colhidas nos quatro *arroios*, somente o arroio de La Boyada foi positivo.

Dos 13 *rios* estudados, em 11 foram realizados exames diretos, os quais se mostraram negativos, tanto para cistos como para trofozoítos de *E. moshkovskii*. Nas culturas apenas a do Rio Araguaia foi positiva.

Dos quatro *mananciais* estudados pelo exame direto, somente o da Prefeitura de Divinópolis revelou conter cistos. Das culturas, apenas uma foi positiva.

Das sete *nascentes*, uma foi positiva para cistos e trofozoítos pelo exame direto; localizava-se no Bairro de Carlos Prates, em Belo Horizonte. Mas, pelas culturas, três mostraram-se positivas, sendo uma de Belo Horizonte, uma de Ouro Preto e outra de Boa Esperança.

Os exames direto das sete *lagoas* e dos três *lagos* mostraram-se negativos, tanto para cistos como para trofozoítos de *E. moshkovskii*, embora positivos para amebas do tipo "li-max". Pela cultura, quatro lagoas foram

TABELA IV

Resultado comparativo da pesquisa da *Entamoeba moshkovskii* pelo exame direto e por culturas, nos diferentes tipos de coleções líquidas

Tipo de coleção líquida	Exame Direto			Culturas	
	N.º de amostras examinadas	Positivos para cistos (*)	Positivos para Trofozoítos	N.º de amostras examinadas	N.º de Positivos
Córregos e ribeirões	23	8	3	23	20
Igarapés e Arroios	15	—	—	15	3
Rios	11	—	—	13	1
Mananciais	4	1	—	4	1
Nascentes	7	1	1	7	3
Lagos e Lagoas	10	—	—	10	4
Poços Artesianos	5	—	—	5	—
Cisternas	16	2	1	39	12
Tanques abertos	6	—	—	6	—
Bueiro pluvial com esgoto e estação de tratamento de esgoto	2	2	1	2	2
Estação de tratamento de água (**)	6	—	—	6	—
Total	105	14	6	130	46

(*) Esses números correspondem também ao total de coleções positivas pelo exame direto.

(**) As seis amostras foram colhidas em duas estações de tratamento de água.

positivas — três de Belo Horizonte e uma de Lavras.

O exame direto e as culturas do material colhido nas cinco caixas dos *poços artesianos* foram negativos.

Das 39 *cisternas* estudadas, somente em 16 foram realizados exames diretos, dos quais dois foram positivos para cistos e um para trofozoítos. Das culturas, 12 foram positivas (30,5%), todas de Belo Horizonte.

Pelo exame direto das amostras colhidas nos seis *tanques abertos*, em nenhum deles foram encontrados cistos ou trofozoítos de *E. moshkovskii*, embora em dois tenham sido

achados cistos e trofozoítos de amebas do tipo "limax", além de ciliados, flagelados e grande quantidade de fungos e bactérias. Nas mesmas coleções, as culturas, repetidas por duas vezes, foram também negativas.

Em uma amostra colhida em um *bueiro pluvial* da cidade de Divinópolis, encontramos uma grande quantidade de cistos, morfológicamente semelhantes aos da *E. moshkovskii*, diagnóstico que foi confirmado pela cultura.

Na estação de *tratamento de esgotos* de Brasília o material foi positivo no exame direto e nas culturas.

TABELA V

Resultado comparativo dos métodos empregados (exame direto e cultura) para a pesquisa da *Entamoeba moshkovskii*, no total das coleções líquidas examinadas

Tipo de exame	Examinados	Positivos	
		N.º	%
Direto	105	14	13,3
Cultura			
Direto	130	42	32,3
Lavado (*)	130	40	30,8
Centrifugado (**)	126	34	27,0
Tratado c/ HCl (***)	57	5	8,8
Total em culturas	130	46	35,4

(*) Material sedimentado espontaneamente e lavado por duas vezes em água com intervalos de 24/48 horas, entre uma e outra lavagem.

(**) Sedimento centrifugado em água três vezes a 2000 r.p.m.

(***) Sedimento centrifugado com água e tratado com sol. de HCl 0,5N por 15'.

O exame direto e as culturas do material colhido nas estações de tratamento d'água do Carangola, em Belo Horizonte e do Serviço de Águas e Esgotos de Boa Esperança, mostraram-se negativos.

Influência da poluição sobre a ocorrência da E. moshkovskii

Os resultados deste estudo, resumidos nas Tabelas VI a IX foram, em detalhe, os que seguem.

Todos os 11 córregos e ribeirões considerados de "alta poluição" mostraram-se positivos para *E. moshkovskii*. Dos três com "média poluição", dois estavam positivos; e, dos nove com "baixa poluição", em sete foi assinalada a *E. moshkovskii*.

Dos 11 agarapés, todos com baixa poluição, a *E. moshkovskii* foi isolada em dois, e dos quatro arroios somente um continha a *E. moshkovskii*, tendo sido considerado de "alta poluição".

Dos 13 rios estudados, somente um foi positivo para *E. moshkovskii*: o rio Araguaia, que atravessa região de baixa densidade populacional, com cerca de um habitante por km² e com baixa poluição.

Os quatro mananciais estudados foram considerados com baixo grau de contaminação, pois nenhum recebe esgotos; deles somente um foi positivo para *E. moshkovskii*.

Das sete nascentes estudadas, duas revelaram a *E. moshkovskii*: uma, situada em Belo Horizonte com colimetria alta e a outra, situada em Ouro Preto, com colimetria negativa (Tabela IX).

Das sete lagoas examinadas quatro foram positivas para *E. moshkovskii*; três classificadas como de "baixa poluição" e uma como de "média poluição".

Os três lagos, considerados de "média poluição", foram negativos para esta ameba.

A *E. moshkovskii* foi constatada em 11 das 22 cisternas altamente poluídas, em uma das

TABELA VI

Resultado da pesquisa de *E. moshkovskii* em diferentes tipos de coleções d'água examinadas, segundo a intensidade de poluição

Tipos de coleções d'água	Total de amostras examinadas (*)	Alta poluição		Média poluição		Baixa poluição	
		Examinadas	Positivas	Examinadas	Positivas	Examinadas	Positivas
Córregos e ribeirões	23	11	11	3	2	9	7
Igarapés e Arroios	15	1	1	—	—	14	2
Rios	13	1	—	2	—	10	1
Mananciais	4	—	—	—	—	4	1
Nascentes	5	1	1	—	—	4	1
Lagos e Lagoas	10	—	—	5	1	5	3
Poços Artesianos	5	—	—	—	—	5	—
Cisternas	33	22	11	4	1	7	—
Tanques abertos	6	—	—	—	—	6	—
Bueiro pluvial com esgoto e estação de tratamento de esgotos	2	2	2	—	—	—	—
Estação de tratamento d'água	6	—	—	—	—	6	—
Total	122	38	26 (68,4%)	14	4 (28,6%)	70	15 (21,48%)

(*) Duas nascentes e seis cisternas foram excluídas da tabela por não ter sido nelas determinado o grau de poluição.

TABELA VII

Presença de *E. moshkovskii* e colimetria (*) em nascentes examinadas em Belo Horizonte, Boa Esperança e Ouro Preto, Minas Gerais

Cidade	Local	Colimetria	<i>E. moshkovskii</i>
Belo Horizonte	Gameleira	...	—
" "	Carlos Prates	+ 2400	+
Boa Esperança	Bicano	...	+
Ouro Preto	Rodovia Inconfidentes	2	—
" "	Veloso	0	—
" "	Fonte da Chácara	0	+
" "	Chácara	0	—

(*) NMP de coliformes em 100 ml de água

quatro com poluição média e em nenhuma das consideradas com baixa poluição. As sete cisternas com índice colimétrico baixo foram todas negativas, enquanto foram positivas 12 das 26 com índice alto. De 20 cisternas "em bom estado de conservação", cinco apresentaram a *E. moshkovskii*, a qual mostrou-se presente em quatro das 13 de "conservação regular" e em três das seis em mau estado de conservação (Tabelas IX e X).

O bueiro pluvial estudado continha vazamento de esgoto; em conseqüência, foi considerado como de "alta poluição", da mesma forma o foi pela colimetria. O material nele colhido revelou-se positivo para *E. moshkovskii*. O mesmo resultado foi obtido para o material colhido na *estação de tratamento de esgotos* de Brasília.

Não encontramos a *E. moshkovskii* em *estações de tratamento de água*, em *tanques abertos* e em *poços artesianos*, situados em Belo Horizonte e Boa Esperança, todos considerados de "baixa poluição".

DISCUSSÃO

Anteriormente aos estudos aqui relatados, a *E. moshkovskii* já fora assinalada em 18

localidades de 11 países distribuídos por três continentes, havendo apenas duas referências a seu achado no Brasil, em ambas as ocasiões na cidade de São Paulo (Tabela I e Mapa 1).

No decorrer de nossas pesquisas, examinando 129 coleções líquidas em 28 localidades brasileiras e numa do Uruguai, encontramos 46 positivas para essa ameba, assinalando-a em nove novas localidades de nosso País e na uruguaia (Tabela II e Mapas 1 e 2).

Ampliamos assim a área conhecida da distribuição geográfica da *E. moshkovskii*.

A maioria dos trabalhos anteriores refere ao isolamento dessa ameba em coleções de água altamente contaminadas com dejetos humanos, principalmente em estações de tratamento de esgotos propriamente ditos. Raras são as publicações que, como as de TSHALAIÁ²², ROGOV¹⁹ e DE CARNERI⁵, assinalam a presença de *E. moshkovskii* em coleções de outro tipo, sendo que no Brasil os dois únicos achados anteriores também ocorreram em estações de tratamento de esgotos.

Em nosso estudo decidimos procurar a *E. moshkovskii* em coleções de tipos os mais diversos, logrando achá-la em córregos e ribeirões, igarapés e arroios, rios, mananciais, nascentes, lagoas e cisternas, além de um

TABELA VIII

Presença de *E. moshkovskii* em cisternas de Belo Horizonte e outras cidades do Estado de Minas Gerais, segundo a profundidade, o estado de conservação, presença de batráquios e a colimetria (*)

Localidades	Profundidade (m)	Estado de conservação			Presença de batráquios	Colimetria	<i>E. moshkovskii</i>
		Bom	Regular	Mau			
BELO HORIZONTE							
Alto dos Pinheiros	12	x			—	180	+
" " "	6	x			—	1600	+
Bela Vista	7		x		—	+2400	—
" " "	6	x			—	+2400	+
" " "	9			x	—	+2400	+
" " "	6			x	+	+2400	—
" " "	8			x	—	+2400	+
Boa Vista	8			x	+	+2400	+
" " "	8	x			—	920	+
Carlos Prates	7	x			—	+2400	—
Cachoeirinha	...		x		—
Coração Eucarístico	16		x		+	...	—
" " "	18	x			...	0	—
" " "	6	x			...	4	—
Craveiro Lopes	...	x			—
Cruzeiro	17	x			—	0	—
" " "	15	x			—	2	—
Dom Cabral	4	x			—	600	—
Favela Pio XII	...		x		...	1600	—
João Pinheiro	...	x			...	130	—
" " "	10	x			—	0	—
Minas Brasil	7	x			—	79	—
Nova Cintra	12			x	—	...	—
Palma	...	x			...	2	—
Santa Mônica	14	x			...	+2400	+
São Vicente	7	x			—	1600	—
" " "	7		x		—	+2400	+
" " "	8		x		—	+2400	+
" " "	10		x		—	+2400	+
" " "	5		x		...	360	—
" " "	3		x		—
" " "	10		x		+	540	+
Saudade	10		x		—	+2400	—
Vila Oeste	10	x			—	...	—
" " "	3			x	—	+2400	—
" " "	15		x		—	+2400	—
BETIM	...	x			...	130	—
FORMIGA	...	x			...	9	—
TEÓFILO OTONI	7		x		...	1600	—

(*) NMP de coliformes em 100 ml de água

TABELA IX

Presença de *E. moshkovskii* em nascentes, poços artesianos e cisternas, segundo a intensidade da poluição dada pela colimetria (*)

Tipos de coleções d'água	Total de amostras examinadas	Alta poluição		Média poluição		Baixa poluição	
		Examinadas	Positivas	Examinadas	Positivas	Examinadas	Positivas
Nascentes (**)	5	1	1	—	—	4	1
Poços artesianos	5	—	—	—	—	5	—
Cisternas (**)	33	22	11	4	1	7	—
Total	43	23	12 (52,2%)	4	1 (25,0%)	16	1 (6,2%)

(*) Alta poluição: acima de 240 N.M.P. de coliformes em 100 ml de água

Média poluição: maior que 10 e menor que 240 N.M.P. de coliformes em 100 ml

Baixa poluição: menos que 10 N.M.P. de coliformes em 100 ml de água

(**) Duas nascentes e seis cisternas não estão incluídas na Tabela por não ter sido nelas feita colimetria

bueiro atingido por esgoto e uma estação de tratamento de esgotos (Tabela III); a água desses depósitos positivos era ora parada ou corrente, límpida ou turva, rasa ou profunda, muito poluída ou com baixo grau de poluição, ou mesmo aparentemente sem possibilidade de contaminação por dejetos humanos.

A influência da poluição na presença da *E. moshkovskii* pode ser discutida com base nos dados expostos na Tabela VI e em outros detalhes do texto. Encarando-se o total das coleções líquidas examinadas, a proporção de positivas para essa ameba foi de 68,4% nos depósitos considerados altamente poluídos, 28,6% nos de poluição média e 21,4% nos de baixa poluição. Isso significaria uma frequência maior da ameba nos ambientes mais poluídos, porém também indicaria que ela pode estar presente em proporção relativamente alta em ambientes pouco poluídos.

Entretanto, quando na mesma Tabela, se observam os dados correspondentes a cada tipo de coleção, constata-se uma grande variação quanto à presença da *E. moshkovskii* e o grau de poluição. Nas cisternas, por exemplo, foram isoladas amostras dessa ameba em 11 das 22 altamente poluídas, em uma das quatro com poluição moderada e em nenhuma das sete com baixa poluição. Mas por outro lado, nos córregos e ribeirões, igarapés e arroios, rios, nascentes, lagos e lagoas, ou não houve diferença quanto à frequência de *E. moshkovskii* e o grau de poluição, ou essa ameba foi mais frequente em depósitos de poluição baixa, sendo isolada de cerca de um terço destes.

Tais dados indicam que a *E. moshkovskii* pode se desenvolver independentemente de esgotos, o que contraria a convicção dos primeiros investigadores que relacionaram a sua presença com a poluição por dejetos de esgotos. Vários lugares de onde isolamos a *E. moshkovskii* estavam aparentemente livres da possibilidade de contaminação por dejetos humanos; isso ocorreu, por exemplo, em um manancial, uma nascente e um igarapé.

Portanto nossos dados indicam que a frequência da *E. moshkovskii* não está necessariamente relacionada com a poluição.

Encontramos a *E. moshkovskii* em lagos e lagoas, como já o haviam feito TSHALAI²² e Rogov¹⁹ na Rússia e, como este último, constatamos também que a profundidade do depósito não influi na ocorrência da ameba. Em apoio a esse conceito, encontramos, ainda, a *E. moshkovskii* em cisternas cuja profundidade variou de seis a doze metros.

Também constatamos que a quantidade de vegetação e matéria orgânica não pareceu influir na frequência dessa ameba.

Devemos frisar ainda o fato de a termos isolado no caudaloso Rio Araguaia (Município de Aragarças, Goiás), no Brasil Central, a mais de mil quilômetros da costa, em local de muito baixa densidade humana. Isso indica que sua distribuição geográfica é muito maior do que supunham os investigadores que primeiro a estudaram, encontrando-se em regiões de condições climáticas as mais diversas.

Os resultados por nós obtidos na pesquisa da *E. moshkovskii* em amostras de água e lodo pelo exame direto revelaram-se bastante inferiores aos conseguidos através de culturas (Tabela V). Provavelmente isso se deve ao fato de não termos utilizado técnicas de concentração para cistos e trofozoítos. Nas cinco amostras positivas pelo exame direto a quantidade de cistos foi muito grande, mas apenas uma revelou trofozoítos em número apreciável. Aliás, cumpre mencionar que somente TSHALAI²¹ e DE CARNERI⁵ informam ter encontrado a *E. moshkovskii* pelo exame direto; a maioria das amostras tem sido obtida em material cultivado.

O isolamento da *E. moshkovskii*, através das diversas fases do processo que empregamos nas culturas, demonstrou que os melhores resultados foram conseguidos pelo plantio direto do material (Tabela V), embora as culturas revelassem alta contaminação por protozoários, bactérias e fungos. Resultados ligeiramente inferiores foram obtidos nas culturas do material lavado e centrifugado, com a vantagem de se apresentarem elas muito menos contaminadas. Culturas de material tratado pelo ácido clorídrico (fase IV) foram muito menos satisfatórias. Os melhores resultados foram obtidos quando seguimos todas as quatro fases.

SUMMARY

Studies on Entamoeba moshkovsky.

II — *New foci in different types of water collections in Brasil and Uruguay*

A hundred and twenty nine collections of water or mud from 28 localities in Brazil and one in Uruguay were examined for the presence of *E. moshkovskii*. Forty six isolates of the organism were made from nine localities (Pará, Goiás, Minas Gerais, Distrito Federal and at Km 93 of the Colonia-Montevidéo road in Uruguay). This amoeba has previously been described from 18 localities in 11 countries but in Brazil only two isolates have been made, both in São Paulo. A treater knowlege of the geographic distribution of the amoeba has therefore been obtained.

Contrary to the current idea that the presence of *E. moshkovskii* is associated with sewage contamination, it was encountered, in the present work in many different types of water, such as brooks, rivelets, "igarapes", brooklets, rivers, reservoirs, springs, lakes, water tanks, a gutter receiving sewage and a sewage treatment station. The amoeba was collected in running or still, clear or turbid, shaled or sunny, deep or shallow water with varying degrees of pollution.

It was also found in sparsely populated places without any possibility of contamination by human debris.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMARAL, A. D. F. & LEAL, A. R. — Sobre uma *Endamoeba* semelhante a *Endamoeba histolytica*, encontrada em material de esgoto. *Rev. Paul. Med.* 34:173-176, 1949.
2. CONSTANTE, M. R. — Observaciones sobre *Endamoeba moshkovskii* — Ameba de vida libre aislada en la ciudad de Guayaquil. *Rev. Ecuat. Hig. Med. Trop.* 22:157-161, 1965.
3. De CARNERI, I. — *Entamoeba invadens* Rodhain, 1934, ed *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903; studio comparato della sensibilità in vitro a 16 farmaci, e probemi connessi com l'uso della prima come modello per ricerche di chemioterapia dell'amebiase. *Riv. Parassit.* 18:133-153, 1957.
4. De CARNERI, I. — *Entamoeba moshkovskii* — like amoebae in Milan. Some considerations of status. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. & Hyg.* 57:148, 1963.
5. De CARNERI, I. — Studi su *Entamoeba moshkovskii*. III — Isolamento de 17 cepi a Milano: caratteristiche morfologiche e adattamento termico all' ambiente di 4 cepi milanesi e di 1 ceppo brasiliano. *Riv. Parassit.* 27:73-88, 1966.
6. FÉLIX-SILVA, E. — Estudos sobre a *Entamoeba moshkovskii* Tshalaia, 1941. I) Isolamento em algumas áreas de Minas Gerais, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 10: 383-388, 1968.
7. FÉLIX-SILVA, E. — Isolamento e manutenção da *Entamoeba moshkovskii* Tshalaia, 1941, em Belo Horizonte, Brasil. *Rev. Farm. e Bioq.* 1:51-57, 1969.
8. FÉLIX-SILVA, E. — Isolation of *Entamoeba moshkovskii* from the Araguaia River, Central Brazil. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. & Hyg.* 65:400, 1971.
9. GNEZDILOV, V. C. — Dados sobre a distribuição geográfica, epidemiologia e profilaxia da amebiase (em russo). *Med. Parasitol.* (Moscou) 16:13-33, 1947.
10. HIRSCHLEROWA, Z. & SWIECIKI, A. — Two strains of *Entamoeba moshkovskii* (Cajala, 1941) in the Coastal area (em polonês). *Bull. Inst. Mar. Gdansk.* 11:147-155, 1960.
11. JONES, E. R. — Experimental attempt to induce drug-resistance in *Entamoeba histolytica*. *J. Exp. Parasit.* 1:118-128, 1952.
12. JORDAN, R. A. — *A study of Endamoeba moshkovskii: its morphologic, cultural and pathologic relationships to some entozoic amebas of reptiles and man.* Thesis. Tulane University, 1954.
13. LACHANCE, B. P. J. — A Canadian strain of *Entamoeba moshkovskii* Tshalaia, 1941. *Canad. J. Zool.* 37:415-417, 1959.
14. LAMY, L. — Technique générale de culture de protozoaires parasites des voies digestives et génitales. *Biol. Med.* 42:210-272, 1953.
15. LEAL, R. A. & AMARAL, A. D. F. — Novos estudos sobre amebas encontradas em esgoto, com referência especial a uma *Endamoeba* (*Endamoeba moshkovskii*) semelhante a *Endamoeba histolytica*. *Arq. Fac. Hyg. São Paulo* 4:125-133, 1950.
16. NEAL, R. A. — A species of *Entamoeba* from sewage. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. & Hyg.* 44:9, 1950b.
17. NEAL, R. A. — Studies on the morphology and biology of *Entamoeba moshkovskii* Tshalaia, 1941. *Parasitol.* 43:253-268, 1953.

FELIX-SILVA, E. & MAYRINK, W. — Estudos sobre a *Entamoeba moshkovskii*. II — Novos focos em diversos tipos de coleções hídricas no Brasil e no Uruguai. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 16: 203-221, 1974.

18. PAVLOVA, E. A. — Sur les methodes de la culture d'*Entamoeba histolytica* (em russo). *Med. Parasit.* (Moscou) 27:224-227, 1938.
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 en Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 8:253-261, 1960.
21. TSHALAIYA, L. E. — Sobre uma espécie de *Entamoeba* descoberta em águas poluídas (em russo). *Med. Parasit.* (Moscou) 10:244-252, 1941.
22. TSHALAIYA, L. E. — Contribuição para o estudo da *Entamoeba moshkovskii* (em russo). *Med. Parasit.* (Moscou) 16:66-69, 1947.
23. WRIGHT, W. H.; GRAM, 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. Royal Soc. Trop. Med. & Hyg.* 56: 344, 1962.
25. ZAMAN, V. & SHAH BANO — Isolation of *Entamoeba moshkovskii*, Tshalaia, from Karachi sewage. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. & Hyg.* 61:153, 1967.

Recebido para publicação em 12/11/1973.