

## CYSTICERCUS BOVIS — I. ENSAIOS DE EVAGINAÇÃO (1)

Hélio Martins de Araújo COSTA (2), Walter dos Santos LIMA (2), Marcos Pezzi GUIMARÃES (2)

### RESUMO

Em provas de evaginação com *Cysticercus bovis*, obtidos de infecções experimentais em bezerros, foram utilizadas bile bovina natural, bile suína natural e bile bovina desidratada em variadas associações com ácido clorídrico, glucose, peptona e água destilada. Os melhores resultados foram obtidos com bile bovina e bile suína a 15% em água destilada e com bile bovina desidratada a 4% em água destilada.

Para as condições em que foi realizado o trabalho puderam ser tiradas as conclusões abaixo:

1. A evaginação de *Cysticercus bovis* ocorre em níveis similares nos meios à base de bile natural de bovinos e suínos;
2. A bile bovina desidratada a 4% é melhor estimulante para a evaginação do que a bile natural;
3. Dentro dos níveis estudados, os percentuais de evaginação crescem à medida que se aumenta a proporção de bile, natural ou desidratada, no meio.

**UNITERMOS:** *Taeniarynchus saginatus*; *Cysticercus bovis*; Evaginação; *Taenia saginata*.

### INTRODUÇÃO

Tentativas de evaginação de larvas de cestódeos ciclofilídeos têm sido feitas por vários pesquisadores, algumas vezes buscando produtos capazes de induzirem estímulo à evaginação e, outras vezes, como um recurso para comprovar a vitalidade das larvas.

Em provas de evaginação muitos produtos e formulações têm sido testados. Na evaginação de *Cysticercus tenuicollis* e de *C. bovis*, MALKANI<sup>5</sup> obteve bons resultados utilizando o tau-rocolato de sódio em solução aquosa a 5%. WAELE<sup>11</sup> conclui que a bile de diferentes espécies

animais tinha idêntica atuação e que os sais biliares constituíam importante fonte de estímulo à evaginação de *Cysticercus*. CAMPBELL & RICHARDSON<sup>2</sup> e CAMPBELL<sup>1</sup> constataram alta eficiência com o uso de detergentes comerciais. RICETTI et alii<sup>7</sup> encontraram resultados divergentes dos obtidos por MALHEIRO et alii<sup>4</sup> com o uso de bile a 5% em solução de Ringer. Posteriormente, RICETTI<sup>8</sup> obteve quase 100% de evaginação utilizando o meio Oxoide CM 31 (bile e verde brilhante a 2%) e meio à base de bile bovina concentrada diluída a 5%.

(1) Apoio do CPq/UFMG

(2) Professores do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

Bolsistas do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Endereço para correspondência: Dr. Hélio Martins de Araújo Costa, Departamento de Parasitologia-ICB, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antonio Carlos, 6627. CEP 31.270 Belo Horizonte, MG., Brasil.

Trabalhando com larvas cisticercóides ROTHMAN<sup>8</sup> obteve bons resultados na evaginação quando adicionou tripsina ao sal de bile, à temperatura de 37° C.

As provas têm sido feitas, na maioria das vezes, usando o *Cysticercus cellulosae*, razão que nos levou a estudos com o *Cysticercus bovis*, inicialmente fazendo ensaios com meios mais complexos e, posteriormente, utilizando soluções mais simples e mais tradicionais.

### MATERIAIS E MÉTODOS

Os *Cysticercus bovis* utilizados nas provas foram obtidos de bovinos sacrificados após sete meses da inoculação experimental com ovos obtidos de *Taeniarhynchus saginatus* recolhidos de pacientes tratados com *Taenicid*\* e conservados em solução glucosada (10%) a 5° C até a separação dos ovos e inoculações em bezerras com 6 a 8 meses de idade.

Para a primeira fase (séries A,B e C) foram programados meios complexos tendo como componentes básicos ora bile bovina, ora bile suína e ora bile bovina desidratada\*\*, variando a composição conforme as tabelas I, II e III. Após esses ensaios foram realizadas provas com soluções à base de bile bovina, bile suína e bile bovina desidratada em diferentes concentrações em água destilada conforme a tabela IV. Usaram-se como controle placas com água destilada e *Cysticercus*, igualmente levadas à estufa.

TABELA I

*Cysticercus bovis*: Ensaios de Evaginação Usando Meios à Base de Bile Bovina Desidratada.

Componentes	Meios					
	A1	A2	A3	A4	A5	A6
Bile desidratada	2g	2g	2g	2g	2g	2g
Glucose	5g	—	—	5g	—	5g
Peptona de carne	10g	10g	—	10g	10g	—
Ácido Clorídrico	0,5ml	0,5ml	—	—	—	—
Água destilada q.s.p.	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml
Evaginação	0/10	5/10	3/10	0/10	1/10	5/10
Eficiência	0,0%	50%	30%	0,0%	10%	50%

\* Taenicid: Produto farmacêutico à base de Diclorofeno.

\*\* Bile bovina desidratada marca MERCK: Cada grama equivale, em eficácia, a 10-12 gramas de bile natural.

TABELA II

*Cysticercus bovis*: Ensaios de Evaginação Com o Uso de Meios à Base de Bile Bovina Natural.

Componentes	Meios					
	B1	B2	B3	B4*	B5*	B6*
Bile Bovina	10ml	10ml	10ml	10ml	10ml	10ml
Glucose	5g	—	—	5g	—	5g
Peptona de carne	10g	10g	—	10g	10g	—
Ácido Clorídrico	0,5ml	0,5ml	—	—	—	—
Água destilada q.s.p.	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml
Evaginação	0/10	5/10	1/10	0/10	1/10	4/10
Eficiência	0,0%	50%	10%	0,0%	10%	40%

\* meios muito turvos e nada recomendáveis

TABELA III

*Cysticercus bovis*: Ensaios de Evaginação Utilizando Meios à Base de Bile Suína Natural.

Componentes	Meios					
	C1*	C2*	C3	C4*	C5*	C6
Bile Suína	10ml	10ml	10ml	10ml	10ml	10ml
Glucose	5g	—	—	5g	—	5g
Peptona	10g	10g	—	10g	10g	—
Ácido Clorídrico	0,5ml	0,5ml	—	—	—	—
Água destilada q.s.p.	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml
Evaginação	2/10	3/10	2/10	0/10	2/10	2/10
Eficiência	20%	30%	20%	0,0%	20%	20%

\* Meios muito turvos e nada recomendáveis

Os *Cysticercus* eram retirados dos tecidos, com cuidado para não lesar as larvas e colocados em solução fisiológica a 8,5%. Foram selecionadas vesículas inteiras, não rompidas, mas dessembradas dos tecidos do hospedeiro e com tamanhos variados.

Para as provas com números menores de *Cysticercus* usavam-se placas de Petri de 9 cm de diâmetro, com 40 ml de meio. Nas provas com maior número de larvas eram usadas placas de 9,5 cm de diâmetro nas quais se colocavam 50 ml de meio. Isto correspondia a uma larva para cada 3,3 a 4,0 ml de meio.

As placas eram colocadas na estufa a 37° C e as leituras feitas a cada duas horas.

TABELA IV

*Cysticercus bovis*: Ensaio de Evaginação em Diferentes Concentrações de Bile Bovina. Bile Suína e Bile Bovina Desidratada

Provas	Meios								
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9
Composições	Bile bovina 5 ml/ 100 ml	Bile bovina 10 ml/ 100 ml	Bile bovina 15 ml/ 100 ml	Bile suína 5 ml/ 100 ml	Bile suína 10 ml/ 100 ml	Bile suína 15 ml/ 100 ml	Bile em pó 2g 100 ml	Bile em pó 4g 100 ml	Bile em pó 4g + Bile Bovina 15 ml em 100 ml
Repetições	3-10	5-30	9-10	4-10	2-10	6-10	3-10	9-10	25-30
	3-10	6-10	6-10	1-10	6-10	9-10	7-10	10-15	26-30
	4-21	21-30	—	—	—	—	8-20	28-30	—
Eficiências	24,4%	60,0%	75,0%	25,0%	40,0%	75,0%	45,0%	85,4%	85,0%

Nas primeiras provas eram feitas três leituras no mesmo dia e as larvas não evaginadas eram deixadas na estufa até o dia seguinte (mais 12 a 14 horas). Nas provas subsequentes eram feitas somente as três leituras no mesmo dia e o material não evaginado era também retirado da estufa e desprezado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas placas utilizadas como controle não ocorreu evaginação.

Os resultados de evaginação usando os meios das séries A, B e C são apresentados nas tabelas I, II e III. Os meios que apresentavam em sua fórmula, além do componente básico (bile), ácido clorídrico e peptona ofereceram os melhores resultados; mesmo assim, a evaginação não era nítida; algumas vezes era incompleta, o que foi melhor notado por ocasião da fixação entre duas placas de vidro.

Também ficou incompreensível o fato de não se ter registrado boa evaginação nos meios onde ocorria somente o componente básico (bile) diluído em água destilada (A3, B3 e C3). Os meios assinalados com asteriscos, nas tabelas II e III, tornaram-se turvos, de aspecto indesejável para provas de evaginação.

Na tabela IV observam-se os resultados obtidos com os meios da série D, onde a evaginação era distinta e as larvas mostravam seus escólices buscando ativamente local para se fixarem. Os

meios à base de bile bovina e bile suína frescas estimularam progressivamente a evaginação à medida que crescia o percentual de bile, tendo ambas alcançado o pico de 75% de evaginação com a concentração de 15% de bile em água destilada. Enquanto isso, com a bile bovina desidratada, o equivalente a 2 g/100 ml de água destilada, resultou em 45% de evaginação; mas com o equivalente a 4g/100 ml de água destilada a eficiência subiu para 85,4% de evaginação, superando com larga vantagem os resultados anteriores. A associação de bile desidratada (4g) com bile bovina natural (5 ml) em água destilada (q.s. p. 100 ml-meio D9) não resultou em maior estímulo à evaginação e o resultado foi ligeiramente inferior ao obtido com a bile bovina desidratada (meio D8). A presença de bile no meio é importante para a evaginação (WAELE<sup>11</sup>; MALHEIRO et alii<sup>4</sup>). Com a bile fresca obtem-se boa evaginação, mas os resultados melhoram quando se usa a bile bovina desidratada, à semelhança do que observaram RICETTI et alii<sup>7</sup> e RICETTI<sup>6</sup> para o *Cysticercus cellulosae*. Nossos resultados foram inferiores aos obtidos por RICETTI<sup>6</sup>, mas convém lembrar que este autor trabalhou com *C. cellulosae* e que as larvas eram desembaraçadas dos tecidos das vesículas, sendo por nós desconhecido o quanto isto poderá influir nos resultados. Por outro lado, não sabemos até que ponto pode ter influenciado a idade da larva, como sugerem DEWHIRST et alii<sup>3</sup>, URQUHART & BROCKLESBY<sup>9</sup> e VAN DEN HEEVER<sup>10</sup>.

Na análise estatística usou-se o teste de Scheffé e os resultados são apresentados na tabela V, onde se verifica que os meios D3, D6, D8 e D9 não apresentaram diferenças estatísti-

camente significativas quando comparadas entre si; mas apresentaram diferenças estatisticamente significativas quando comparados com os outros meios (D1, D2, D4, D5 e D7).

TABELA V

*Cysticercus bovis*: Análise de Comportamento dos Meios da Série D — Tabela IV (Teste de Scheffé).

	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9
X1		NS	S	NS	NS	S	NS	S	S
X2			S	S	NS	S	NS	S	S
X3				S	S	NS	S	NS	NS
X4					NS	S	NS	S	S
X5						S	NS	S	S
X6							S	NS	NS
X7								S	S
X8									NS
X9									

S = significante  
NS = Não significante

## SUMMARY

### *Cysticercus bovis* — I. Tests with evaginating agents.

Fresh bovine and swine bile and dehydrated bovine bile in association with chloridric acid, glucose, peptone or distilled water were utilized to induce evagination of *C. bovis*. Better results were obtained by using bovine or swine fresh bile 15% or dehydrated bovine bile 4% in distilled water.

The *C. bovis* evagination pattern was the same in broths containing bovine or swine bile. The bovine dehydrated bile at 4% is better for the evagination than the natural one; in the studied concentrations a increase in the percentage of evagination was observed with a concomitant increase in the concentration of bile.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAMPBELL, W. C. — The efficacy of surface-active agents in stimulating the evagination of cisticerci "in vitro" *J. Parasit.*, 49: 81-84, 1963.
- CAMPBELL, W. C. & RICHARDSON, T. — Stimulation of *Cysticercus* evagination by means of surfactants. *J. Parasit.*, 46: 490, 1960.
- DEWHIRST, L. W.; CRAMER, J. D. & PISTOR, W. J. — Bovine Cysticercosis. I. Longevity of Cysticerci of *Taenia saginata*. *J. Parasit.*, 49: 297-300, 1963.
- MALHEIRO, D. M.; SCHNEIDER, I. S.; PANETTA, J. C.; MORENO, A. G. & MACIEL, G. A. — Observações acerca da vitalidade do *Cysticercus cellulosae* quando submetidos a baixas temperaturas. *Arch. Inst. biol. (S. Paulo)*, 33: 137-148, 1966.
- MALKANI, P. G. — Rapid method for evagination the scolices in parasitic cysts. *Indian vet. J.*, 10: 122-124, 1933.
- RICETTI, R. V. — Estudos sobre a evaginação "in vitro" do *Cysticercus cellulosae*. *Rev. Fac. Med. vet. zootecn. Univ. S. Paulo*, 12: 247-258, 1975.
- RICETTI, R. V.; MORENO, A. G.; ISEY, Y. & PANETTA, J. C. — Estudos sobre a vitalidade do *Cysticercus cellulosae*. Testes com um novo líquido para evaginação do escólice. In: CONFERÊNCIA ANUAL DA SOCIEDADE PAULISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 25., São Paulo, 1970. Anais. p. 101-102.
- ROTHMAN, A. H. — The excystment of tapeworm larvae *J. Parasit.*, 43: 22-23, 1957.
- URQUHART, G. M. & BROCKLESBY, D. W. — Longevity of *Cysticercus bovis*. *J. Parasit.*, 51: 349, 1965.
- VAN DEN HEEVER, L. W. — On the longevity of *Cysticercus bovis* in various organs in a bovine. *J. Parasit.*, 53: 1168, 1967.
- WAELE, A. de — Etude de la fonction biliaire dans le phénomène de l'evagination chez les cysticerques des cestodes. *Ann Parasit. hum comp.*, 12: 492-510, 1934.

Recebido para publicação em 29/12/1987