

Meio de Diamond (TYM) modificado: isolamento, cultivo e manutenção axênica de cepas e clones de tricomonas com importância médico-veterinária

Diamond's (TYM) medium modified: isolation, cultivation and axenic cultures of strains
and clones of trichomonads of importance in human medicine and in veterinary

Geraldo A. De Carli¹, Marilise B. Rott², Aline T. Wendorff¹ & Ana C. da Silva¹

RESUMO - Meio de Diamond modificado pela adição de tryptone e suplementado com soro de búfalo.

SUMMARY - Diamond's medium modified by the addition of tryptone and water buffalo serum.

PALAVRAS CHAVE - Meio de Diamond modificado, soro, isolamento de tricomonas.

KEY WORDS - Diamond's medium modified, serum, trichomonads isolation.

Muitos meios de cultura líquidos ou semi-sólidos suplementados com soro de ovelha, bovino, bezerro, cavalo e humano são usados para o cultivo e manutenção axênica de diferentes espécies de tricomonas de origem humana (*Trichomonas vaginalis* e *Pentatrichomonas hominis*) e de importância na medicina veterinária (*Trichomonas gallinae*, *Trichomonas foetus* e *Trichomonas suis*). Vários autores^{1,2,11} afirmam que o cultivo é superior à observação direta das tricomonas móveis em preparações a fresco ou pelo exame de preparações fixadas e coradas. Os meios de Johnson & Trussell (1943)⁸, Kupferberg (1948)¹⁰, Feimberg & Whittington (1957)⁹ e de Diamond (1957)⁵ são indicados para o isolamento de *T. vaginalis*, enquanto que o meio de Plastring (1943)¹² modificado por Fitzgerald *et al.* (1954)⁷ é indicado para o diagnóstico de *T. foetus* e *T. suis*. O meio tripticase-extrato de levedo-maltose (TYM), descrito por Diamond em 1975 é usado em nosso laboratório para o isolamento, cultivo e manutenção axênica de cepas e clones de tricomonas. Este meio foi modificado inicialmente por De Carli & Ramirez (1975)², no qual a trypticase (BBL) foi substituída pela tryptone (DIFCO) e o soro de bovino

pelo de cavalo. Neste trabalho preliminar o soro de búfalo foi adicionado ao meio de Diamond em substituição ao soro de cavalo. A composição do meio TYM (Trypticase-Yeast-Extract-Maltose) Diamond (1957) modificado é a seguinte:

Tryptone (Difco)	20,0g
Extrato de levedo (Difco)	10,0g
Maltose (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁) (DIFCO)	5,0g
L-cisteína, cloreto (C ₃ H ₇ NO ₂ S.HCl)	1,0g
Ácido ascórbico (C ₈ H ₈ O ₈)	0,2g
Hidrogenofosfato dipotássico (K ₂ HPO ₄)	0,8g
Dihidrogenofosfato de potássio (KH ₂ PO ₄)	0,8g
Ágar (Difco Bacto)	0,5g
Água destilada-deionizada	900,0g
pH 6,0 ou 7,2	

Os sais tampões (K₂HPO₄ e KH₂PO₄) são dissolvidos em 600 ml de água. Os ingredientes restantes são acrescentados na ordem apresentada, com exceção do ágar. O pH é ajustado em 6,0 para *T. vaginalis* e 7,0-7,2 para *T. foetus*, *T. suis*, *T. gallinae* e *P. hominis* com solução 1N de NaOH. Antes da inoculação é adicionado aos tubos 1,0 ml de soro de búfalo não diluído, estéril e inativado (56°C por 30 minutos), 1.000 UI/ml de

penicilina e 1 mg/ml de sulfato de estreptomicina. O meio completo é armazenado à temperatura de 4 a 5°C até 10 dias. Foi observado em nosso laboratório que os sais tampões não são necessários para o crescimento de *T. vaginalis*, *T. gallinae*, *T. foetus* e *T. suis*. Os resultados obtidos pela comparação entre o meio de Diamond (1957) suplementado com soro de cavalo, com o mesmo meio, no qual foi adicionado soro de búfalo, mostrou não existirem diferenças significativas no número de organismos que medraram nos dois meios de cultivo. Os trofozoítas dos flagelados mantiveram a sua forma característica, não sendo observada nenhuma alteração ou deformação na sua morfologia. Os organismos em estudo adaptaram-se ao meio suplementado com soro de búfalo nos pH 6,0 e 7,0-7,2.

O meio de cultura manteve-se em ótimo estado de conservação, mesmo depois de um mês estocado a 5°C. Nas culturas de 48 horas, as tricomonas estavam presentes em grande número no fundo do tubo de cultura, mas algumas podiam ser encontradas disseminadas pelo meio. A grande vantagem do uso do soro de búfalo, no Estado do Rio Grande do Sul, é a sua fácil obtenção nos matadouros.

Recebido em 01/9/94

¹Departamento de Análises, Faculdade de Farmácia

²Departamento de Microbiologia, Instituto de Biociências, UFRGS, Porto Alegre, RS

REFERÊNCIAS

1. De Carli, G.A. & Machado, B. - Epidemiologia e diagnóstico laboratorial de *Trichomonas vaginalis*. *Rev. Microbiol.* (S. Paulo) 4:33-36, 1973.
2. De Carli, G.A. & Ramirez, J.G. - *Trichomonas suis*: Isolamento, morfologia e incidência na cavidade nasal de porcos domésticos no Rio Grande do Sul. *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo* 12:269-276, 1975.
3. De Carli, G.A.; Pansera, M.C.G. & Guerrero, J. - *Trichomonas gallinae* (Rivolta, 1878) Stabler, 1938, no trato digestivo superior de pombos domésticos, *Columba livia*, no Rio Grande do Sul - Primeiro Registro. *Acta Biológica Leopoldensia* 1: 85-95, 1979.
4. De Carli, G.A. - Diagnóstico de laboratório da trichomonose urogenital. *Rev. Bras. Anál. Clín.* 24:47-52, 1992.
5. Diamond, L.J. - The establishment of various trichomonads of animals and man in axenic cultures. *J. Parasitol.* 43:488-490, 1957.
6. Feinberg, J.G. & Whittington, M.J. - A culture medium for *Trichomonas vaginalis* Donné and species of *Candida*. *J. Clin. Pathol.* 10:327-329, 1957.
7. Fitzgerald, P.R.; Hammond, D.M. & Shupe, J.L. - The role of culture in immediate and delayed examinations of preputial samples for *Trichomonas foetus*. *Vet. Med.* 49:409-412, 1954.
8. Foust, A.C. & Kraus, S.J. - *Trichomonas vaginalis*. Reevaluation of its clinical presentation and laboratory diagnosis. *J. Infect. Dis.* 141:133-143, 1980.
9. Johnson, S. & Trussel, R.E. - Experimental basis for the chemotherapy of *Trichomonas vaginalis* infections. I. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 54:245-249, 1943.
10. Kupferberg, A.B. Johnson, G. & Sprince, H. Nutritional requirements of *Trichomonas vaginalis*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 67:304-308, 1948.
11. Linstead, D. Cultivation. p. 91-111. - In B.M. Honigberg (ed) *Trichomonads Parasitic in Humans*. Springer-Verlag, New York, 1989.
12. Plastringe, W.M. - Cultivation of a bacteria-free strain of *Trichomonas foetus*. *J. Bacteriol.* 45: 196-197, 1943.

Estudo *in vitro* sobre a interação de extratos e compostos puros das raízes de *Valeriana officinalis* com receptores do GABA, benzodiazepínicos e barbiturato no cérebro de rato

T. Mennini *et al.* - *Fitoterapia* 64(4): 291-300, 1993

Os autores pesquisaram extratos e substâncias obtidas da valeriana na tentativa de determinar o mecanismo de ação com depressor do SNC. Além dos extratos brutos, foram ensaiados sesquiterpenos e valepotriatos (derivados iridoides). Os resultados confirmam a atuação sedativa da valeriana.

Proteção contra o veneno de jararaca de constituintes isolados de plantas

N. A. Pereira *et al.* - *Planta Medica* 60(2): 99-100

Os resultados obtidos no estudo com plantas antiofídicas são reavaliados com as substâncias isoladas das plantas que apresentaram atividade contra a letalidade do veneno de jararaca. Os compostos estudados são reunidos em grupos químicos visando correlacionar atividade-estrutura química.

Os efeitos hepatoprotetores da *Eclipta alba* são estudados a nível subcelular em ratos

A. K. Saxena, B. Singh & K. K. Arand
J. Ethnopharmacol. 40: 155-161, 1993

A *Eclipta alba* (*E. prostrata*) conhecida no Brasil como erva-botão, é empregada popularmente como antiofídica e os estudos com a Wedelolactona isolada do vegetal confirmaram efeitos contra o veneno de jararaca e cascavel. As propriedades antiflogísticas e hepatoprotetoras já estudadas na Alemanha são agora avaliadas à nível subcelular, confirmando as propriedades hepatoprotetoras a nível de enzimas microsossomais.