

## Capítulo 13

### ESTUDO E PESQUISA EM HELMINTOLOGIA

Como capítulo final do presente trabalho julgamos útil, à guisa de sùmula, exemplificar o modo de proceder aconselhável aos iniciantes .

Para facilitar a prática na comparação das descrições com o material que se deseja examinar, deve-se procurar colher, examinar e determinar helmintos parasites de pequenos animais domésticos, já bem conhecidos, cujas descrições e figuras são encontradas nos manuais de helmintologia veterinária (BAYLIS, 1929; NEVEU-LEMAIRE, 1936; CÉSAR PINTO, 1945) . Preferimos indicar, para essa finalidade, pombos, galinhas, cães, gatos e ratos, não só por serem fáceis de obter, como por serem geralmente parasitados por espécies variadas de helmintos. As rãs fornecem, igualmente, um material variado e elucidativo.

A coleta deve ser cuidadosa e sempre acompanhada do exame, ao microscópio, de lâminas preparadas com vários raspados dos órgãos examinados, a fim de melhor orientar o exame, pela pesquisa de ovos ou de larvas, e, ainda, de espécimes menores.

O material colhido deve ser ainda cuidadosamente examinado, quando ainda em vida, para felicidade na interpretação das diversas formações externas e internas.

A comparação deste material com as descrições das espécies mencionadas para o hospedador em questão levará à identificação do parasito. É aconselhável, também, fazer ligeiros desenhos salientando a posição das diversas estruturas. Estes estudos preliminares são bastante demorados e para que o material restante não se perca, deve ser recolhido em placas de Petri com abundante soro fisiológico (em nosso clima, nos dias quentes, o material seca rapidamente) .

Após este primeiro exame, trata-se então da fixação e conservação do material. É de grande utilidade o uso de um caderno no qual se regista cada necrópsia, que receberá um número de ordem. Anotar-se-á a proveniência do exemplar examinado, o sexo, se jovem ou adulto e o dia do exame, e, ainda, os helmintos encontrados com a respectiva localização e o grande grupo a que pertence.

## Exemplo:

Necrópsia n.º 1203, em 17-3-950.

Rã macho (nome científico, se possível)

No pulmão — nematódeos e trematódeos

No intestino delgado — trematódeos de duas espécies

No grosso intestino — nematódeos

Na vesícula urinaria — trematódeos

Na cavidade geral — nematódeos

O material, depois de fixado de acordo com as técnicas referidas em outro capítulo, será depositado em tubos ou frascos pequenos, de preferência cilíndricos, proporcionais às dimensões dos espécimes, acompanhado de rótulo feito a lápis macio e colocado no interior do frasco, mergulhado no líquido conservador. Os rótulos deverão mencionar: o nome do hospedador e sua proveniência, a localização no organismo deste, a data da captura e o nome do colecionador. O uso de um caderno ou livro de registo das necrópsias é muito recomendável, não somente porque permite assinalar aí qualquer fato observado que pareça interessante (o número maior ou menor de espécimes, por exemplo), como porque retém no mesmo lugar um ligeiro esquema do material encontrado; além disto, permite simplificar o rótulo que vai dentro do frasco acompanhando o material, pois então seria bastante que o rótulo indicasse simplesmente o número do registo da necrópsia e a localização do helminto no corpo do hospedador (por exemplo, n.º 1203, vesícula urinaria). As restantes indicações comuns a todas as amostras da mesma necrópsia ficaram registradas no livro.

O estudo do material já fixado terá de ser orientado de acordo com o grupo a que pertencer o helminto. Se nematódeo, deverá ser colocado entre lâmina e lamínula (caso a dimensão permitir) ou em uma pequena placa de Petri de 50 mm. de diâmetro, para se dar início à clarificação; no primeiro caso, faz-se penetrar por capilaridade entre a lâmina e a lamínula uma ou duas gotas de ácido acético que tornará o material convenientemente transparente, permitindo deste modo com facilidade a observação das estruturas morfológicas, sua medida e seu desenho para comparação com o referido nas descrições. As medidas são muito fáceis de serem feitas, desde que se disponha de um micrômetro ocular e de um micrômetro objeto (vide LANGEKON), de maneira a se ter para cada aumento o valor das divisões do micrômetro ocular. Esta técnica de medidas é elementar e qualquer manual a refere.

Quanto menor o órgão a ser medido, maior o aumento a se empregar, para desse modo diminuir os erros. É aconselhável que se organize uma tabela de aumentos para evitar cálculos repetidos e feitos apressadamente, o que é muito fácil fazer em uma folha de papel quadriculado: em uma primeira coluna vertical colocam-se os algarismos representando o número de divisões do micrômetro ocular e em colunas paralelas o seu valor em *micra* para cada objetiva do sistema ótico em uso.

Divisões do micrômetro ocular	Obj. 5	Obj. 10	Obj. 20
1 .....	30 micra	15 micra	7,5 micra
2 .....	60 "	30 "	15,0 "
3 .....	90 "	45 "	22,5 "
4 .....	120 "	60 "	30,0 "
5 .....	150 "	75 "	37,5 "
6 .....	180 "	90 "	45,0 "

Desse modo, com o número de divisões que determinada estrutura a medir apresentar ao micrômetro ocular será fácil e rápido obter, usando a tabela, as dimensões desejadas.

Para se ter uma diafanisação mais acentuada e melhor apreciar as estruturas quitinosas substitui-se o ácido acético por fenol ou creosoto de faia. Convém fazer rodar os nematódeos sob a vista do observador para que seja observada sob vários ângulos, bastando para isso deslocar horizontalmente a lamínula, lentamente, na direção conveniente.

Tratando-se de platelmintos, deve-se previamente corar e diafanisar, como foi referido em capítulo anterior.

Os parasites comuns de animais domésticos são facilmente determináveis pela comparação de vários exemplares com as descrições e figuras existentes nos manuais.

As espécies em que a descrição é resumida ou que não venham acompanhadas de um desenho orientador exigem, sempre que possível, a comparação com a descrição original. O nome da espécie, quando é corretamente mencionado, vem acompanhado do do autor e data, de tal modo que se não é referido o nome da publicação é fácil encontrá-la procurando em um dos indicadores de referências citados na bibliografia (Index-Catalogue ou Zoological Record).

Tratando-se de grupos de helmintos com revisão monográfica publicada, deve-se recorrer diretamente a esta (os títulos servem de indicador).

Quando se tratar de material proveniente de animais não domésticos procede-se do modo seguinte:

No caso de nematódeos de vertebrados recorrer ao livro de YORKE & MAPLESTONE, que, embora um tanto antigo, permitirá uma grande aproximação. No caso de trematódeos e polistomídeos infelizmente a publicação de ordem geral que existe, a de PRATT, é já antiquada, embora preste ainda bons serviços. Para cestódeos recorrer aos trabalhos de FUHRMANN e SOUTHWELL. Para acantocéfalos ver a monografia de MEYER, onde são encontradas todas as indicações dos trabalhos anteriores. Na falta desta, para estudos da fauna brasileira, as revisões de TRAVASSOS, já antiquadas. Para gordiáceos as publicações de HEINZE; para os linguatulídeos a monografia de HEYMONS ou o ótimo trabalho de SAMBON.

Uma vez bem determinada a família, em que se enquadra o material, procura-se, no *Zoológica! Record* ou *Helminthological Abstracts*, alguma monografia sobre a mesma.

Os estudos de helmintologia têm feito nos últimos 40 anos um tal progresso que uma publicação escrita há 10 anos já pode ser considerada antiquada, não somente por nova orientação no critério da separação dos diversos grupos, como pelo estabelecimento de novos gêneros e descrição de novas espécies. Assim, é indispensável que seja dada uma busca nos índices bibliográficos mais importantes para procurar trabalhos aparecidos posteriormente à monografia que se tem em mão. Quando for encontrada alguma espécie sobre a qual se julgue útil fazer um registo ou uma publicação, é necessário tomar cuidadosas medidas dos órgãos cujas dimensões são habitualmente referidas nas descrições e desenhada no conjunto e nos detalhes.

Para a realização destes desenhos é indispensável o uso -da "câmara clara", aparelho do qual existem diversos modelos, que permite fazer o decalque, sobre o papel de desenho, do material em estudo. Este aparelho permite um desenho fiel, principalmente nas proporções relativas, e é de manejo fácil. É bom notar que estes instrumentos são feitos para vista normal e se o iniciante encontrar alguma dificuldade que não possa vencer, esta provavelmente correrá por conta de alguma anomalia visual a qual deverá ser corrigida por meio de lentes receitadas por um oculista.

Sobre a técnica de desenhos científicos deve ser consultado o livro de MUELLER, 1935.

É indispensável que o desenho seja acompanhado por uma escala feita ao lado da figura, que se obtém substituindo no microscópio o espécime desenhado pelo micrometro objeto, cuja escala será desenhada, total ou parcialmente.

O material que for sendo coletado ou que se receba de alguma outra pessoa deverá ser organizado em coleção. Para isto cada amostra (constituída por um só ou por um lote de exemplares), deverá receber um número e dela se fará uma ficha.

Esta ficha deverá conter: a) número da amostra; b) nome, caso tenha sido determinado, ou o nome do grupo menor em que possa ter sido classificado (gênero, família, superfamília, ordem, ou em último caso, classe); c) nome do hospedador (quando possível o científico); d) localização no hospedador; e) meio conservador; f) local da captura do hospedador; g) data da coleta; h) nome do coletor; i) número da autópsia (quando esta foi registrada) .

Para conservação usamos dois processos: para material de alguns centímetros de comprimento ou muito abundante frascos de rolha de esmeril no mínimo de 30 g.; para exemplares pequenos e pouco abundantes frascos cilíndricos de 10 mm. de diâmetro com rolha de cortiça e colocados dentro de grande frasco de 300 g., de rolha de esmeril.

Em nosso clima, nos meses de verão, os frascos pequenos permitem evaporar o líquido conservador, o que corresponde a se perder o material. Os frascos pequenos, quando colocados em um maior tendo no fundo pequena camada de algodão e algumas gramas de líquido conservador, protegem o material de uma possível evaporação do líquido.