

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

THAMIRIS DE OLIVEIRA

MÉTODOS COPROPARASITOLÓGICOS COMUMENTE UTILIZADOS NOS
LABORATÓRIOS DE ANÁLISES CLÍNICAS PARA IDENTIFICAÇÃO DE
PARASITOS INTESTINAIS: UMA BREVE REVISÃO DE LITERATURA

BAURU

2019

THAMIRIS DE OLIVEIRA

MÉTODOS COPROPARASITOLÓGICOS COMUMENTE UTILIZADOS NOS
LABORATÓRIOS DE ANÁLISES CLÍNICAS PARA IDENTIFICAÇÃO DE
PARASITOS INTESTINAIS: UMA BREVE REVISÃO DE LITERATURA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Sagrado Coração, como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Biomedicina, sob orientação da Prof^ª. Dra. Érica Boarato David.

BAURU

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

O48m	<p>Oliveira, Thamiris de</p> <p>Métodos coproparasitológicos comumente utilizados nos laboratórios de análises clínicas para identificação de parasitos intestinais: uma breve revisão de literatura / Thamiris de Oliveira. -- 2019. 29f. : il.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Érica Boarato David</p> <p>Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade do Sagrado Coração - Bauru - SP</p> <p>1. Métodos coproparasitológicos. 2. Enteroparasitose. 3. Diagnóstico laboratorial. I. David, Érica Boarato. II. Título.</p>
------	--

THAMIRIS DE OLIVEIRA

MÉTODOS COPROPARASITOLÓGICOS COMUMENTE UTILIZADOS NOS LABORATÓRIOS
DE ANÁLISES CLÍNICAS PARA IDENTIFICAÇÃO DE PARASITOS INTESTINAIS: UMA
BREVE REVISÃO DE LITERATURA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como
parte dos requisitos para obtenção do título de
bacharel em Biomedicina- Universidade do
Sagrado Coração.

Aprovado em: ___/___/___.

Banca examinadora:

Prof.^a Dra. Érica Boarato David (Orientadora)
Universidade do Sagrado Coração

Prof.^a Dra. Ana Carolina Polano Vivan
Universidade do Sagrado Coração

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a Deus por me levantar a cada vez que tropecei durante meu caminho e por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades.

Deixo um agradecimento especial a minha orientadora Prof.^a Dra. Érica Boarato David pelo incentivo e pela dedicação de sempre estar presente para indicar a direção correta que o trabalho deveria tomar.

Agradeço a minha mãe, heroína que me deu apoio, incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço, que apesar de todas as dificuldades me fortaleceu e que para mim foi muito importante.

Agradeço meu pai pelo carinho, atenção e apoio que me deu durante toda a minha vida.

Ao meu irmão, pela amizade e atenção dedicadas quando sempre precisei.

Aos meus amigos em especial a Alicia, Vitor, Magda e Giovana, deixo aqui minha gratidão, pois foram eles que fizeram com que eu seguisse sempre de cabeça erguida.

Aos professores que ministraram alguma disciplina nesses oito semestres do curso de Biomedicina, desempenhando com sucesso seu papel de mediador no processo de ensino / aprendizagem.

“O que perdeu a riqueza, nada perdeu;
o que perdeu a saúde, perdeu algo;
o que perdeu a coragem, perdeu
tudo.”(François Mauriac).

RESUMO

As doenças parasitárias estão entre as mais comuns entre a população com baixo nível Socioeconômico. Embora as enteroparasitoses representem um grande desafio à saúde humana, ainda são enfermidades negligenciadas, pois frequentemente estão associadas à pobreza e às precárias condições sanitárias, prevalentes em países socioeconomicamente menos favorecidos, aumentando a reincidência das infecções parasitárias. Em termos epidemiológicos, a maioria das infecções causadas por esses parasitas ocorre por via fecal-oral e as infecções são adquiridas a partir da ingestão de ovos (helmintos) ou cistos (protozoários) presentes na água e nos alimentos contaminados com resíduos fecais. Apesar do agente etiológico, a disseminação das infecções gastrintestinais está associada, principalmente, ao contato pessoa a pessoa, por meio das mãos sujas, ou indiretamente por meio de vômitos ou da ingestão de água e alimentos contaminados. No que se refere ao diagnóstico laboratorial de enteroparasitoses, na rotina laboratorial, podem ser empregados diferentes métodos que são classificados como quantitativos ou qualitativos baseando-se no encontro de elementos parasitários (cistos, trofozoítos, ovos, larvas e exemplares adultos), nos principais processos sendo: Sedimentação espontânea, sedimentação por centrifugação, flutuação espontânea, centrifugo-flutuação e concentração de larvas de helmintos por migração ativa, devido ao hidrotropismo e termotropismo positivos. O profissional deverá ter conhecimento sobre os métodos coproparasitológicos e quanto as formas morfológicas, o uso da melhor técnica que tornem a relação sinal-ruído favorável ao microscopista, para que os elementos parasitários sejam facilmente distinguíveis de diversas partículas diferentes como restos de alimentos, fibras vegetais e bactérias, para que seja reduzido o tempo de processamento, com um melhor custo-benefício, gerando resultado eficaz e confiável.

Palavras chaves: Métodos coproparasitológicos, enteroparasitose e diagnóstico laboratorial

ABSTRACT

Parasitic diseases are among the most common among the population with low socioeconomic status. Although enteroparasitic diseases pose a major challenge to human health, they are still neglected diseases, as they are often associated with poverty and poor sanitary conditions, prevalent in socioeconomically disadvantaged countries, increasing the recurrence of parasitic infections. In epidemiological terms, most infections caused by these parasites occur via the fecal-oral route and infections are acquired from ingestion of eggs (helminths) or cysts (protozoa) present in water and food contaminated with fecal waste. Despite the etiologic agent, the spread of gastrointestinal infections is mainly associated with person-to-person contact through dirty hands or indirectly through vomiting or ingestion of contaminated food and water. Regarding the laboratory diagnosis of enteroparasitosis, in the laboratory routine, different methods can be used which are classified as quantitative or qualitative based on the finding of parasitic elements (cysts, trophozoites, eggs, larvae and adult specimens), in the main processes: Spontaneous sedimentation, centrifugation sedimentation, spontaneous flotation, centrifugation fluctuation and helminth larvae concentration by active migration due to positive hydrotropism and thermotropism. The practitioner should be knowledgeable about coproparasitological methods and morphological forms, the use of the best technique that makes the signal-to-noise ratio favorable to the microscopist, so that parasitic elements are easily distinguishable from several different particles such as food scraps, vegetable fibers. and bacteria, so that processing time is reduced and cost-effective, yielding effective and reliable results.

Keywords: Coproparasitological methods, enteroparasitosis and laboratory diagnosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Ovos de <i>Hymenolepis nana</i>	20
Figura 2 - Ovo de <i>Taenia</i> sp	20
Figura 3 - Ovo de <i>Ancylostoma</i> sp	22
Figura 4 – Cistos <i>Giardia duodenalis</i>	22
Figura 5 - Cistos de <i>Entamoeba coli</i>	23
Figura 6 - Cisto de <i>Entamoeba histolytica</i>	23
Figura 7 - Ovo de <i>Áscaris lumbricoides</i>	25
Figura 8 - Ovo de <i>Schistosoma mansoni</i>	26
Figura 9 - Ovo de <i>Enterobius vermiculares</i>	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Principais protozoários intestinais.....	16
Tabela 2 - Principais helmintos intestinais.....	17

Sumário

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS.....	13
3	METODOLOGIA	14
4	DESENVOLVIMENTO	15
4.1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
4.1.1	DIAGNÓSTICO DE ENTEROPASITOSES	15
4.1.2	MÉTODOS DE CONCENTRAÇÃO POR SEDIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA.....	18
4.1.3	MÉTODOS DE CONCENTRAÇÃO POR CNTRÍFUGO-FLUTUAÇÃO	20
4.1.4	MÉTODOS DE FLUTUAÇÃO.....	22
4.1.5	TÉCNICA DE QUANTIFICAÇÃO.....	23
4.1.6	CONCENTRAÇÃO DE LAVAS DE HELMINTOS PRO MIGRAÇÃO ATIVA	25
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
	REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO

Considerando a disponibilidade de métodos e dos esforços que são empreendidos para se controlar as enteroparasitoses, essas infecções persistem como um dos principais problemas de saúde pública, sobretudo nos países em desenvolvimento, onde se apresentam como os principais fatores debilitantes da população, pois frequentemente estão associadas à pobreza e às precárias condições sanitárias, principalmente em países socioeconomicamente menos favorecidos (STEPHENSON *et al.*, 2000).

As doenças parasitárias que afetam bilhões de indivíduos no mundo têm como agentes etiológicos alguma espécie de helminto e/ou protozoário gastrointestinal. Em termos epidemiológicos, a maioria das infecções causadas por esses parasitas ocorre por via fecal-oral e as infecções são adquiridas a partir da ingestão de ovos (helmintos) ou cistos (protozoários) presentes na água e nos alimentos contaminados com resíduos fecais. No entanto, há também infecções por helmintos que ocorrem a partir da penetração na pele de larvas infectantes presentes no solo contaminado (FLETCHER *et al.*, 2012).

No que se refere ao diagnóstico geral de enteroparasitoses, na rotina laboratorial, o diagnóstico das parasitoses intestinais ocorre, principalmente, através da utilização de técnicas parasitológicas em amostras fecais. Essas técnicas apresentam baixo custo e procedimento técnico simples, e podem ser empregados diferentes métodos que são classificados como quantitativos ou qualitativos. Os métodos quantitativos são aqueles nos quais se faz a contagem de ovos na fezes, podendo assim, verificar a intensidade do parasitismo. Os métodos qualitativos são os mais utilizados, sem quantificação das formas parasitárias, apenas demonstrando a presença ou não de parasitas (NEVES *et al.*, 2016).

Com relação ao diagnóstico clínico das parasitoses intestinais, na maioria das vezes estes é impreciso, pois baseia-se em manifestações clínicas, que, nesse caso, podem variar desde quadros com sintomatologias inespecíficas, como diarreia, náuseas e desconforto abdominal, a quadros assintomáticos. No laboratório de rotina preconiza-se uma combinação de técnicas com o objetivo de aumentar a eficiência diagnóstica, afim de diminuir os resultados falsos negativos, principalmente quando há baixa carga parasitária. (MENDES *et al.*, 2005).

Muitas vezes as formas parasitárias são eliminadas em pequena quantidade com as fezes, havendo a necessidade de utilizar processos para concentrá-las. Os principais processos são: Sedimentação espontânea, sedimentação por centrifugação, flutuação espontânea, centrifugo-flutuação e concentração de larvas de helmintos por migração ativa, devido ao

hidrotropismo e termotropismo positivos. (NEVES *et al.*, 2000.)

Na rotina laboratorial, as técnicas de sedimentação, espontânea ou pela centrifugação, são as mais utilizadas, pois proporcionam boa recuperação de oocistos, cistos, ovos e larvas presentes na amostra fecal. Nesses processos, as formas morfológicas de protozoários e helmintos são sedimentadas igualmente pela gravidade ou centrifugação. A sedimentação apresenta uma ação contrária, a flutuação. Os cistos, oocistos, ovos e larvas se depositam no fundo do tubo, enquanto os detritos são suspensos na superfície, não interferindo no diagnóstico final. (DE CARLI *et al.*, 2007.)

Já as técnicas de flutuação baseiam-se no princípio da diferença de densidade específica entre os cistos e oocistos de protozoários, ovos de helmintos e o material fecal, com a finalidade de que tais organismos flutuem na superfície dos reagentes com densidade específica. Os reagentes usados nas técnicas de flutuação são de alta densidade para a concentração dos ovos, cistos e oocistos de parasitos. (DE CARLI *et al.*, 2007.)

Além dessas técnicas tradicionais, os pesquisadores perceberam a necessidade de novas metodologias mais eficazes e práticas, e diante disso, outras técnicas e kits comerciais foram surgindo no mercado com o objetivo de facilitar a rotina laboratorial. Dentre os kits disponíveis no Brasil, o kit Paratest® promete facilitar o EPF (Exames Parasitológicos de fezes) desde a coleta da amostra, realizando a conservação e diluição em formalina a 5% tamponada, como também a concentração dos espécimes fecais após a filtração da solução em uma tela de 266 micras, ofertando um sedimento para a análise microscópica. A nova metodologia é destinada a realizar muito mais exames em um reduzido espaço físico e de tempo, a um custo baixo com relação aos métodos coprológicos tradicionais.

Sendo assim, a utilização de métodos coproparasitológicos na rotina de diagnóstico das enteroparasitoses ainda se faz necessária, pois além de menor custo essas metodologias são capazes também de detectar grande diversidade de espécies de enteroparasitas. Além disso, o diagnóstico laboratorial desempenha um papel importante no diagnóstico das infecções parasitárias, sendo a chave para a seleção da conduta terapêutica adequada (MACHADO *et al.*, 2008).

2 OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivo realizar uma breve revisão de literatura sobre os principais métodos utilizados na rotina laboratorial para o diagnóstico coproparasitológico.

3 METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão de literatura, realizada no período compreendido de fevereiro a outubro de 2019. O trabalho foi realizado através de abordagem bibliográfica, desenvolvida com base em material previamente elaborado por outros autores, e sua busca foi feita consultando as bases de dados PubMed e Google Scholar usando os seguintes descritores: exames coproparasitológicos, diagnóstico de parasitas intestinais, diagnóstico laboratorial de helmintos e protozoários intestinais.

4 DESENVOLVIMENTO

4.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1.1 DIAGNÓSTICO DE ENTEROPASITOSE

Dentre as infecções causadas por helmintos, destacam-se *Ascaris lumbricoides* que infecta cerca de 820 milhões de pessoas em todo o mundo, seguido por *Trichuris trichiura* e *ancilostomídeos* que infectam aproximadamente 475 milhões e 440 milhões de indivíduos, respectivamente (DARYANI *et al.*, 2017). Além desses parasitas, agridam a esse panorama os helmintos, *Enterobius vermicularis*, *Strongyloides stercoralis* e *Hymenolepis nana*. Já com relação aos protozoários responsáveis por causar distúrbios entéricos, destacam-se *Giardia*, *Cryptosporidium* e *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*. Estima-se que 200 e 500 milhões de indivíduos em todo o mundo sejam hospedeiros de *Entamoeba histolytica* e *Giardia*, respectivamente (DARYANI *et al.*, 2017).

Para a realização desses exames, a coleta e a conservação de amostra fecal são de extrema importância, devendo ser colhida em recipiente limpo e de boca larga, sem contaminação por urina. Amostras de fezes líquidas e diarreicas devem ser examinadas em até 30 minutos após a realização da coleta, para que seja possível a observação de trofozoítos vivos de protozoários ou mantidos em solução preservativa até o exame. Amostras pastosas podem conter cistos e trofozoítos, devem ser examinadas em até 1 hora após a realização da coleta. Já as amostras de fezes formadas, mesmo mantidas em temperatura ambiente, conservada em solução preservativa ou refrigerada (3-5°C), podem ser examinadas vários dias após a coleta. (AMATO NETO *et al.*, 2008).

As estratégias de exame no diagnóstico laboratorial das infecções por parasitos intestinais baseiam-se no encontro de elementos parasitários (cistos, trofozoítos, ovos, larvar e exemplares adultos) em amostras de fezes examinadas ao microscópico.

Amostra fecal para análises de amostras em uma estratégia eficaz, reduzindo o tempo de processamento, com um melhor custo-benefício, gerando resultado eficaz e confiável, depende do uso de métodos que tornem a relação sinal-ruído favorável ao microscopista, para que os elementos parasitários sejam facilmente distinguíveis de diversas partículas diferentes como restos de alimentos, fibras vegetais e bactérias. (AMATO NETO *et al.*, 2008).

No exame direto utiliza-se uma pequena porção de fezes, que são recém-eliminadas e colocadas sobre a lâmina em solução salina para retardar a coagulação, coberta com lamínula e examinada logo em seguida em microscópio, podendo ser visualizado os parasitos vivos e

movimentando-se. O cistos de protozoários e as larvas de helmintos necessitam da coloração por lugol para identificação correta na microscopia. (NEVES *et al.*, 2004).

Tabela 1- Principais protozoários intestinais

Parasita	Morfologia	Ciclo Biológico	Método de Escolha
<i>Giardia duodenalis</i> (Giardiase)	Simetria bilateral, 2 núcleos, 8 flagelos, Forma de pêra.	Homem→ambiente (fezes) →Animais, alimentos, Água→ homem.	Fezes diarréicas: Hematoxina férrico ou direto. Fezes formadas: Faust, centrifugação ou sedimentação espontânea.
<i>Entamoeba coli</i> (Não Patogênica)	Trofozoitos, Cisto esférico 1 à 8 núcleos e ameida que eles aumenta, o diâmetro nuclear/quantidade de cromatina do cisto reduzem .	Humano → fezes ambiente→água, alimento→ Humano	Willis, faust e Richie
<i>Entamoeba Histolytica</i> (Amebíase)	Trofozoitos, Forma irregular c/ núcleo e cromatina pequeno; Cisto esférico, 2 á 4 núcleos.	Humano → fezes ambiente→água, alimento→ Humano.	Willis, faust e Richie

Fonte: Elaborada pela autora

Tabela 2 - Principais helmintos intestinais

Parasita	Morfologia	Ciclo Biológico	Método de Escolha
<i>Ascaris lumbricoides</i> (Ascaridíase).	Verme grande; Macho 20 cm , Fêmea 35 cm	Homem→ambiente- alimento e água →homem.	Sedimentação espontânea, centrifugação ou Kato-Katz
<i>Taenia solium</i> / <i>Taenia saginata</i> (Teníase).	Verme longo, 4 m, composta por Escólex, 4 ventosas Proglote.	Homem→carne crua suína, bovina contaminada →fezes ambi →boi, porco susceptível	Tamização Fita gomada (Graham)
<i>T.solium</i> (Cisticercose)	Ovos pequenos c/ embrião, cisticercos -larva	Homem sadio→alimento com ovo scisticercos aloja- se nos tecidos	Hoffman e Faust
<i>Schistosoma</i> <i>Mansoni</i> (Esquistossomíase Mansônica).	Corpo delgado, longo e 2 ventosas	Homem→ rio, lago Contaminado c/ cercaria→ Penetra na pele através d o Banho	Sedimentação espontânea, centrifugação ou Kato-Katz
<i>Ancylostoma</i> <i>duodenale</i> Ancilostomídeo	Ovo, larva rabditóide e filarióides, cápsula bucal com dois pares de dentes e detalhe da bolsa copuladora.	Ovo→ambiente-larva rabditóide → larva filarióide→ penetra o homem e o contamina.	Willis e Faust
<i>Strongyloides</i> <i>stercoralis</i> (Estrongiloidíase)	Ovo, larva filarióide e rabditóide (notar a ausência de bainha). 2 a 3 mm, quando parasitando o intestino humano.	Ovos-fezes→ pessoa contaminada → larvas rabditóides, podendo tornar-se larvas filarióides→ penetração na mucosa intestinal→ ciclo de Looss	Rugai

<i>Enterobius vermicularis</i>	Nematódeo de 0,3 a 1,0 cm, ovo, larvas e verme adulto um par de asas cefálicas.	Pós o acasalamento → macho-fezes → fêmea adulta se dirige até o ânus-ovipostura, → ovos maturam pele perianal/solo	Fita gomada
<i>Trichuris trichiura</i>	Ovo, larvas e vermes adultos- três a cinco centímetros.	Ingestão dos ovos → eclodem no intestino → as larvas se desenvolvem nas criptas cecais → acasalamento e liberação dos ovos.	Hoffman, Faust e Kato-Katz
<i>Hymenolepis nana</i>	Ovo, larvas e vermes adultos.	Ovo → homem → larva cisticercóide → proglotes contendo ovos → fezes.	Hoffman e Faust

Fonte: Elaborada pela autora

4.1.2 MÉTODOS DE CONCENTRAÇÃO POR SEDIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA

As técnicas de concentração procuram separar os elementos parasitários dos demais interferentes presentes nas fezes com o emprego de etapas adicionais, como sedimentação, flutuação e centrifugação. Eles facilitam o encontro de cistos de protozoários e de ovos de helmintos, que resultam em maior sensibilidade diagnóstica, diminuindo as matérias fecais na preparação a ser observada ao microscópio. (AMATO NETO *et al.*, 2008).

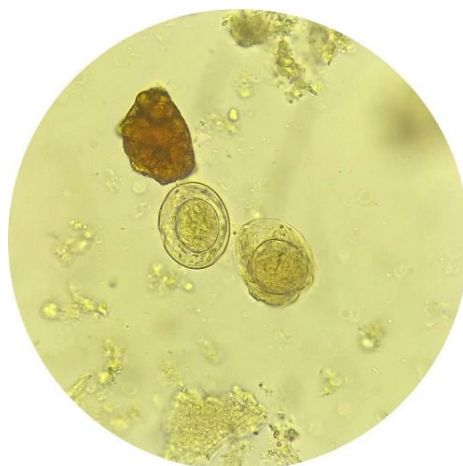
No Brasil, a técnica de concentração mais frequente empregada na rotina clínica é o método de concentração por sedimentação, que é descrita por Hoffmann, Pons e Janer (1934). Este método é recomendado para a pesquisa de ovos pesados, que consiste na sedimentação, por ação da gravidade, de uma das suspensões de fezes. Para que ocorra a retirada de partículas interferentes grosseiras, as amostras são peneiradas em peneira de 80-100 malhas por cm, que substitui com vantagem a gaze dobrada, de malha irregular, tradicionalmente empregada neste processo e realizada em tubos de fundo cônico. Após 2 horas, a maioria dos ovos de helmintos e cistos de protozoários pode ser encontrada no sedimento depositado no recipiente de sedimentação, que é recolhido com uma pipeta Pasteur e examinado ao microscópio após coloração com solução de lugol. A ocorrência em se prolongar excessivamente o tempo de sedimentação das amostras, o sedimento passa a conter também

grande quantidade de elementos interferentes, tornando a relação sinal-ruído desfavorável ao microscopista. (AMATO NETO *et al.*, 2008).

No método Lutz ou de Hoffman, Pons e Janer, que são de sedimentação espontânea como citado acima, é realizado da seguinte maneira:

1. Com a colocação de aproximadamente 2g de fezes em um frasco Borrel, com cerca de 5mL de água, e com um bastão de vidro trituras bem e acrescentar aproximadamente 20 mL de água;
2. Filtrar a suspensão para um cálice crônico de 200 mL de capacidade;
3. Com gaze cirúrgica dobrada em quatro; os detritos retidos são lavados com mais de 20 mL de água;
4. Agitando-se com o bastão, devendo o líquido de a lavagem ser recolhido no mesmo cálice;
5. Completar volume com água e deixar essa suspensão em repouso durante 24 horas;
6. Depois de aguardar o período de espera, observar o aspecto do líquido sobrenadante, que poderá estar turvo, que deverá ser descartado cuidadosamente sem levantar ou perder o sedimento;
7. Colocar mais água até o volume anterior e deixar em repouso mais 60 minutos, ou se na observação o líquido estiver límpido e o sedimento bom, procederá à coleta de uma amostra do sedimento para o exame;
8. Existem duas técnicas para se coletar o sedimento para o exame, onde uma das técnicas é introduzir uma pipeta obliterada pelo dedo indicador até o fundo do cálice, contendo o sedimento e o cálice sobrenadante, retirar e deixar subir uma pequena porção do sedimento, recolocar o dedo e retirar a pipeta; a outra técnica é despreza o líquido sobrenadante cuidadosamente, homogeneizar o sedimento e colocar uma gota do mesmo;
9. Colocar parte do sedimento numa lâmina e examinar com as objetivas de 10x ou de 40x. (NEVES *et al.*, 2004).

Através do método de método Lutz ou de Hoffman, Pons e Janer, podemos observar ovos de helmintos e cistos de protozoários. Dentre os helmintos, *Hymenolepis nana* (Figura 1) e *Taenia* sp (Figura 2), em em microscópio com a objetiva de 40x.



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 1- Ovos de *Hymenolepis nana*



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 2 - Ovo de *Taenia sp*

4.1.3 MÉTODOS DE CONCENTRAÇÃO POR CNTRÍFUGO-FLUTUAÇÃO

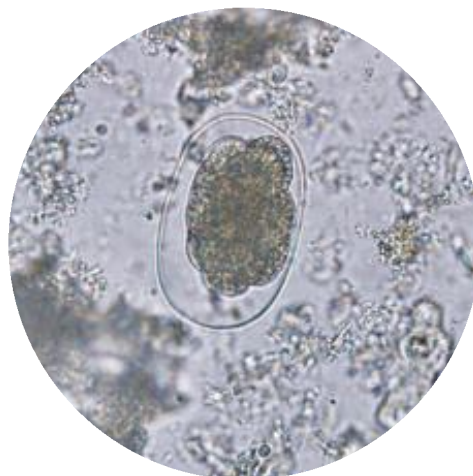
Outra técnica de concentração muito utilizada é a de centrífugo-flutuação, descrita por Faust e colaboradores em 1938, que consiste nas etapas de centrifugação de suspensão de fezes em água, seguida de suspensão e centrifugação do sedimento em uma solução de sulfato de zinco com massa específica de 1,18. Na última etapa de centrifugação, os ovos de helmintos leves e cistos de protozoários tendem a concentrar-se na película superficial da

solução de sulfato de zinco, de onde são retiradas com o uso de uma alça bacteriológica. Após as amostras serem obtidas, são coradas com solução lugol e examinada ao microscópio. (AMATO NETO., 2008).

No método de Faust por centrifugação-flutuação em sulfato de zinco a técnica consiste:

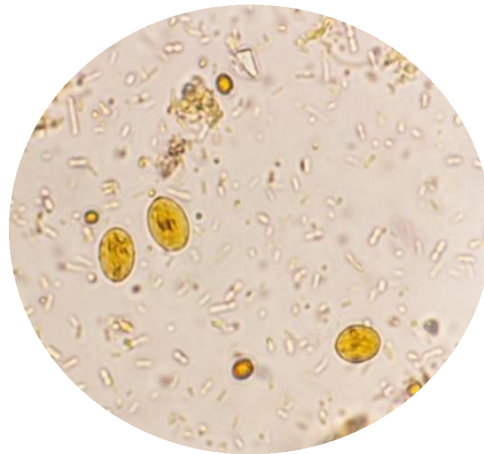
1. Diluir 10g de fezes em 20 mL de água de água filtrada e homogeneizar bem;
2. Filtrar através de gaze dobrada em quatro, num copo plástico;
3. Transferir para um tubo de Wasserman e centrifugar por um minuto a 2.500rpm;
4. Desprezar o líquido sobrenadante e ressuspender o sedimento em água;
5. Após este procedimento é necessário repetir as operações até o líquido sobrenadante fique claro;
6. Desprezar a água sobrenadante e ressuspender o sedimento com uma solução de sulfato de zinco a 33%, densidade de 1,18g/ml e centrifugar novamente por um minuto a 2.500rpm;
7. Os cistos presentes estarão na película superficial; a mesma é recolhida com alça de platina e colocada numa lâmina junto com uma gota de lugol e coberta com lâmina. (NEVES *et al.*, 2004).

Através do método de Faust, podemos observar ovos de helmintos e cistos de protozoários. Dentre os helmintos, *Ancylostoma sp* (Figura 3) e cistos de protozoários de *Giardia duodenalis* (Figura 4), em em microscópio com a objetiva de 40x.



Fonte: Google.

Figura 3 - Ovo de *Ancylostoma sp*



Fonte: Google.

Figura 4 – Cistos *Giardia duodenalis*

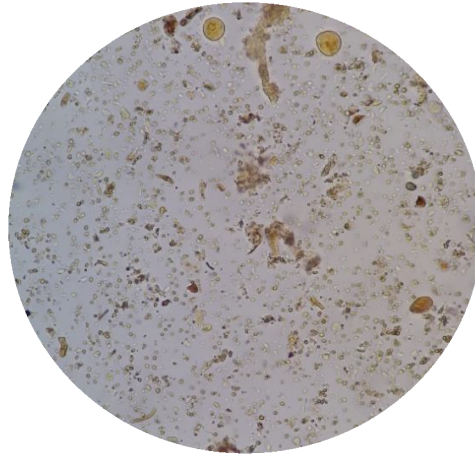
4.1.4 MÉTODOS DE FLUTUAÇÃO

O método de flutuação de Willis, preconizado para a pesquisa de ovos de ancilostomídeo das fezes, consiste em dissolver pequenas amostras de fezes, cerca de 1g, em solução saturada de cloreto de sódio, em um recipiente de cerca de 3 cm de diâmetro, de modo que a superfície do líquido atinja a borda do recipiente, com a lâmina de microscópio sobre a boca por 1 a 5 minutos, levantando-a invertendo-a a seguir. Os ovos de alguns helmintos tendem a flutuar nessas condições, concentrando-se junto à borda superior do recipiente e transferidos para a lâmina de microscopia. (AMATO NETO *et al.*, 2008).

No método de Willis, a técnica de flutuação consiste:

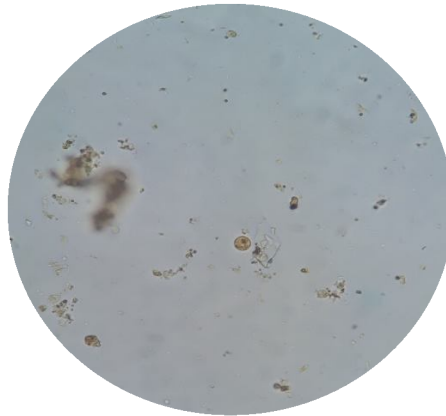
1. Em colocar 10g de fezes num frasco Borrel e diluir as mesmas em solução saturada de açúcar ou sal (NaCl);
2. Completar o volume até a borda do frasco e colocar na boca do frasco uma lâmina, que deverá estar em contato com o líquido, e deixar em repouso por cinco minutos;
3. Retirar rapidamente a lâmina, voltando para cima a parte molhada, e cobrir a lâmina, podendo-se corar ou não pelo lugol;
4. Examinar no microscópio com objetiva de 10x ou de 40x. (NEVES *et al.* 2004).

Através do método de Willis, observar podemos observar cistos de protozoários, dentre eles *Entamoeba coli* (Figura 5) e *Entamoeba histolítica* (Figura 6), em em microscópio com a objetiva de 40x.



Fonte: Elaborada pela autora

Figura 5 - Cistos de *Entamoeba coli*



Fonte: Elaborada pela autora

Figura 6 - Cisto de *Entamoeba histolítica*

4.1.5 TÉCNICA DE QUANTIFICAÇÃO

A técnica de quantificação de cargas parasitárias se baseia em diferentes estratégias para estimar a massa ou o volume da amostra fecal a serem examinados, sendo realizada de modo indireto, através de contagens de ovos de helmintos detectados em amostras fecais e métodos para a contagem de cistos de protozoários são raramente empregados na prática clínica e os resultados são expressos em número de ovos por gramas de fezes. A técnica quantitativa de uso mais frequente é aquela conhecida como Kato-Katz, que emprega uma

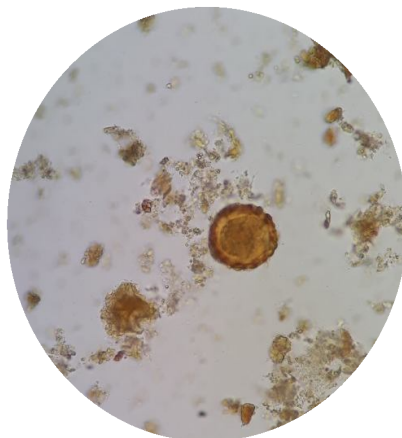
pequena placa perfurada para medir o volume da amostra a ser examinada (42 mg), em que a amostra é comprimida entre lâmina e lamínula e diafanizada em glicerina. A análise de lâminas pelo método de Kato-Katz é trabalhosa e demorada. (AMATO NETO *et al.*, 2008).

O método de Kato, modificado por Katz e Cols consistem em amostras frescas ou conservadas (M.I.F.), e não liquefeitas.

Preparar uma solução de verde de malaquita de acordo com a seguinte fórmula:

- Glicerina 100 ml
 - Água destilada 100 ml
 - Verde malaquita a 3% 1 ml
1. Cortar papel celofane semipermeável em pedaços de 24 mm por 30 mm e deixá-los mergulhados na solução de verde-malaquita por pelo menos 24 horas;
 2. Colocar, uma pequena quantidade da amostra fecal sobre um papel;
 3. Comprimir as fezes com um pedaço de tela metálica e retirar as fezes que passaram para a parte superior da tela;
 4. Com o auxílio de um palito, transferir para o orifício de um cartão retangular de plástico, colocado sobre uma lâmina de vidro;
 5. Retirar o cartão cuidadosamente, deixando as fezes (42 mg) sobre a lâmina;
 6. Cobrir as fezes com o papel celofane e inverter a lâmina sobre uma folha de papel e comprimi-la e examinar ao microscópio contando os ovos presentes. (NEVES *et al.* 2004).

Através do método de Kato-Katz, podemos observar ovos de helmintos e cistos de protozoários. Dentre os helmintos, *Ascaris lumbricoides* (Figura7), em microscopio com a objetiva de 40x.



Fonte: Elaborada pela autora

Figura 7 - Ovo de *Áscaris lumbricoides*

Além disso, pode-se realizar uma biópsia retal para a identificação dos ovos retidos na mucosa, quando os exames de fezes são negativos, pois em pacientes com infecção crônica por *S. mansoni*, a eliminação de ovos nas fezes é pequena devido a retenção de ovos na mucosa do intestino grosso e reto. (AMATO NETO *et al.*, 2008).

4.1.6 CONCENTRAÇÃO DE LAVAS DE HELMINTOS PRO MIGRAÇÃO ATIVA

Para a pesquisa de larvas de ancilostomídeos e *Strongyloides stercoralis*, em amostras fecais, utiliza-se a técnica descrita por Baermann, posteriormente simplificada por Rugai, Mattos e Brisola. O método consiste em atrair as larvas presentes na amostra fecal para o fundo de um recipiente contendo água aquecida a 45°C, valendo-se de seu hidrotropismo e termotropismo. As larvas rabditóides de *S. stercoralis* são as mais encontradas em amostras fecais humanas frescas, porém amostras que forem mantidas em temperatura ambiente por alguns dias antes de ser examinadas podem conter larvas rabditóides de ancilostomídeos, que surgiram a partir dos ovos presentes nas fezes, nos quais as características mais úteis para diferenciar essas larvas são encontradas na cavidade bucal e no primórdio genital. (AMATO NETO *et al.*, 2008).

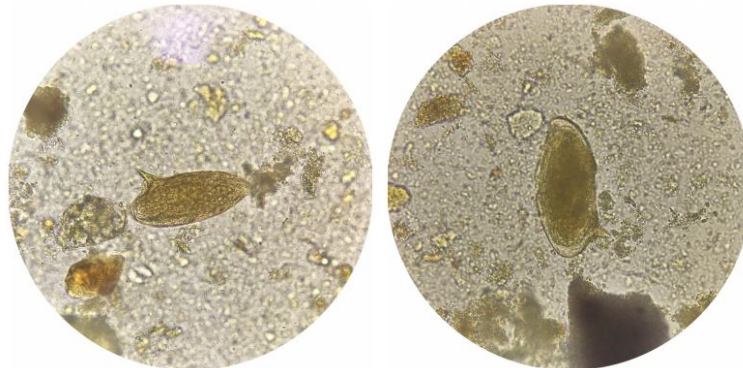
Esse método não é eficiente em fezes diarreicas (as larvas morrem muito rapidamente) ou coletadas com conservante.

O método de Rugai consiste em:

1. Retirar a tampa do recipiente que acondiciona as fezes e envolvê-lo em ter gaze, fazendo uma pequena “trouxa”;
2. Colocar o material assim com a abertura voltada para baixo, em um cálice de sedimentação, contendo água aquecida (45°C); e deixar em repouso por uma hora;
3. Coletar o sedimento no fundo do cálice, com ajuda de uma pipeta. Corar as larvas com lugol e observá-las em microscópio óptico para identificá-las. (NEVES *et al.* 2004).

Através do método de Rugai, podemos observar ovos de helmintos e cistos de protozoários. Dentre os helmintos, *Schistosoma mansoni* (Figura 8),

em microscópio com a objetiva de 40x.



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 8 - Ovo de *Schistosoma mansoni*

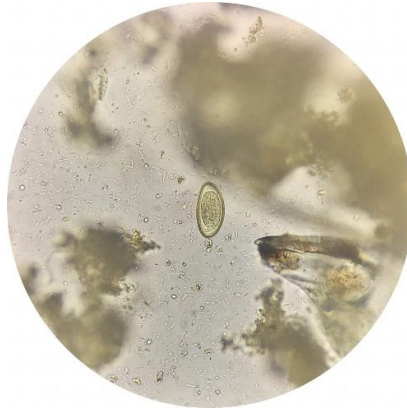
A pesquisa de ovos de *Enterobius vermicularis* pode ser encontrada em amostras fecais, mas a maioria deles permanece aderida a mucosa da pele da região perinatal, portanto, o diagnóstico laboratorial da enterobíase é realizado com o auxílio de uma fita adesiva de celofane, no qual é colocado em contato com a região perianal e posteriormente é transferida para uma lâmina de microscópio. Esta técnica é também útil para o diagnóstico laboratorial da teníase e trata-se de um método simples execução, conhecida como *swab anal*. AMATO NETO *et al.*, 2008).

O método de Graham ou da fita gomada é realizado da seguinte maneira:

1. Em uma lâmina, fixar uma tira de 5 a 6 cm de fita durex transparente, colocando, nas duas extremidades, tiras de papel de aproximadamente 4cm, que servirão de suporte para segurar e para identificação do material;
2. Destacar a fita da lâmina e colocar sobre o fundo de um tubo de ensaio;
3. Afastar as nádegas e aplicar a superfície aderente da fita na região perianal, fazendo movimento de vaivém para tocar o máximo possível na mucosa perianal.
4. Remover a fita e distendê-la sobre uma lâmina de microscopia e examinar ao microscópio com objetivas 10x e 40x.

(NEVES *et al.* 2004).

Através do método da fita gomada, possível observar ovos de Helmintos, dentre eles o *Enterobius vermiculares* (Figura 9), em microscópio com a objetiva de 40X.



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 9 - Ovo de *Enterobius vermicularis*

No enteroteste podem-se pesquisar trofozoítos de *Giardia* em amostras de suco duodenal, no qual é obtida através de um dispositivo disponível no comércio, no qual o paciente precisa engolir a cápsula e uma extremidade da corda é presa à bochecha, e degrada-se no intestino delgado, liberando o cordão em que se aderem os trofozoítos, e posteriormente o cordão é retirado lentamente e colocado em solução salina, onde qualquer líquido gastrointestinal adsorvido, muco, sangue ou bile encontrado na cadeia é examinado ao microscópio. (AMATO NETO *et al.*, 2008).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com a literatura, a frequência de parasitoses intestinais no mundo é elevada, sendo um grave problema para a saúde pública, que resulta em alta prevalência de contaminações que repercutem constantemente em populações de baixo nível socioeconômico, devido a baixa estrutura de saneamento básico e educação sanitária, aumentando a reincidência das infecções parasitárias.

Este presente estudo, sobre os principais métodos utilizados na rotina laboratorial para o diagnóstico coproparasitológico, tem como objetivo detectar a presença de elementos que comprovem a existência de parasita no intestino, assim como a capacidade de determinar o seu tipo, através do exame parasitológico de fezes. Para isso, o profissional deverá ter conhecimento quanto as formas morfológicas de protozoários e helmintos, e a técnica de escolhas, partindo dos princípios da colheita, conservação e armazenamento do material de interesse, possibilitando uma melhor compreensão da confiabilidade e eficaz de resultados dos diagnóstico laboratoriais

REFERÊNCIAS

- AMATO NETO, V. et al. **Parasitologia: uma abordagem clínica**. 1^oed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.
- AMATO NETO, V. et al. **Parasitologia: uma abordagem clínica**. 2^o ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.
- DARYANI A. et al. **Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in the Iranian general population: a systematic review and meta-analysis**. Acta Trop, 2017.
- DE CARLI, G.A. **Parasitologia Clínica: Seleção de métodos e técnicas de laboratório para diagnóstico das parasitoses humanas**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2007.
- FLETCHER, J. M. et al. **Transtornos de aprendizagem da identificação à intervenção**. Porto Alegre: Artmed. 2012.
- MACHADO ER, et al. **Enteroparasites and commensals among children in four peripheral districts of Uberlândia**, State of Minas Gerais. Rev Soc Bras Med Trop. 2008; 41(6):581-5.
- MENDES CR. et al. **Estudo comparativo de técnicas parasitológicas: Kato-Katz e Coprotest®**. Rev Soc Bras Med Trop, 2005.
- NEVES, D. P. et al. **Parasitologia Humana** - 10^oed. São Paulo: Atheneu, 2000.
- NEVES, D. P. et al. **Parasitologia humana**. 11^o ed. São Paulo: Atheneu, 2004
- NEVES, D.P. et al. **Parasitologia Humana** - 13^oed. São Paulo: Atheneu, 2016.
- STEPHENSON. et al. **Malnutrition and parasitic helminth infections**. Parasitology, 121, 23–38, 2000.