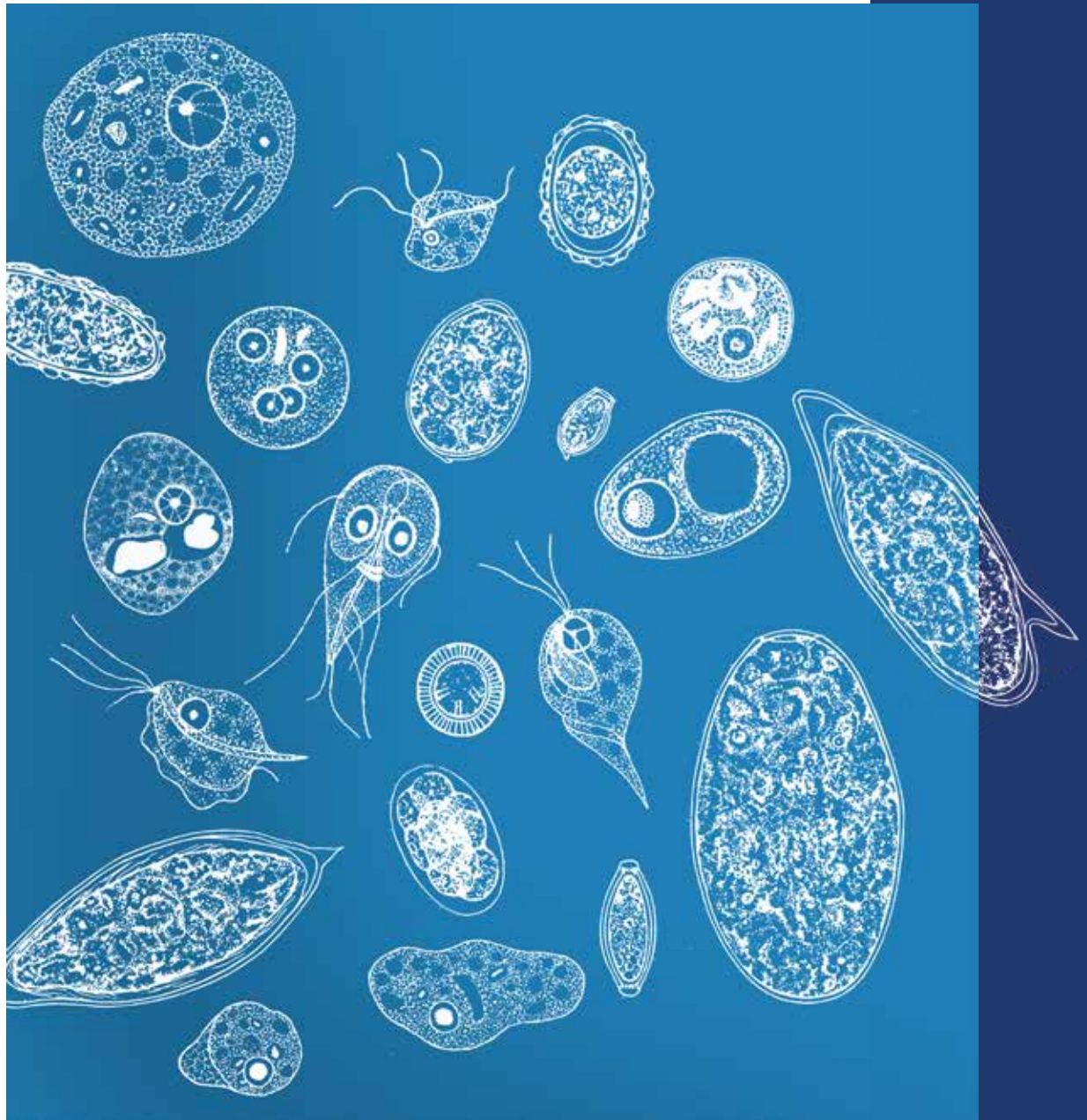


Pranchas para o diagnóstico de parasitos intestinais



segunda edição

OPAS



Organização
Pan-Americana
da Saúde



Organização
Mundial da Saúde
REPUBLICA FEDERAL DO BRASIL

Estas pranchas foram organizadas e produzidas por

Professor Marco Genchi, Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade de Parma, Parma, Itália

Sr. Idzi Potters, BSc, Departamento de Ciências Clínicas, Instituto de Medicina Tropical, Antuérpia, Bélgica

Sra. Rina G. Kaminsky, MSc, Departamento de Pediatria, Escola de Ciências Médicas, Universidade Nacional Autônoma, Honduras, e Serviço de Parasitologia, Departamento de Laboratório Clínico, Hospital Universitário, Honduras

Dr. Antonio Montresor, Quimioterapia Preventiva e Controle de Transmissão, Departamento de Controle de Doenças Tropicais Negligenciadas, Organização Mundial da Saúde, Genebra, Suíça

Dr. Simone Magnino, Instituto Zooprofilático Experimental da Lombardia e da Emilia-Romagna, Bruno Ubertini, Pavia, Itália

Agradecimentos

A Organização Mundial da Saúde (OMS) agradece ao Instituto Zooprofilático Experimental da Lombardia e da Emilia-Romagna "Bruno Ubertini" o apoio financeiro e técnico para o preparo deste documento. Agradecimentos calorosos também ao Instituto de Medicina Tropical da Antuérpia por disponibilizar sua extensa coleção de imagens.

Agradecimentos também a

Dr. Shaali Ame, Centro Colaborador da OMS para Doenças Tropicais Negligenciadas, Unidade de Parasitologia, Laboratório de Saúde Pública Ivo de Carneri, Pemba, República Unida da Tanzânia

Professor Giuseppe Cringoli, Departamento de Medicina Veterinária e Produção Animal, Universidade de Nápoles Federico II, Nápoles, Itália

Dra. Yvette Endriss, Instituto Suíço de Saúde Pública e Tropical, Basileia, Suíça

Professora Laura Rinaldi, Departamento de Medicina Veterinária e Produção Animal, Universidade de Nápoles Federico II, Nápoles, Itália

Dra. Francesca Tamarozzi, Centro Colaborador da OMS para Epidemiologia, Detecção e Controle da Equinococose Cística e Alveolar, Istituto Superiore di Sanità (Instituto Nacional de Saúde), Roma, Itália

Dr. Fabio Tosini, Laboratório de Referência da União Europeia para Parasitos, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Itália

Dr. Jürg Utzinger, Instituto Suíço de Saúde Pública e Tropical, Basileia, Suíça

Versão oficial em português da obra original em Inglês

Bench aids for the diagnosis of intestinal parasites

© World Health Organization 2019

ISBN 978-92-4-151534-4

Pranchas para o diagnóstico de parasitos intestinais

© **Organização Pan-Americana da Saúde, 2020**

ISBN: 978-92-75-72205-3

eISBN: 978-92-75-72206-0



Alguns direitos reservados. Esta obra está disponível nos termos da licença Atribuição-NãoComercial-CompartilhaIgual 3.0 OIG de Creative Commons; <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/igo/deed.pt>.

De acordo com os termos desta licença, esta obra pode ser copiada, redistribuída e adaptada para fins não comerciais, desde que a nova obra seja publicada com a mesma licença Creative Commons, ou equivalente, e com a referência bibliográfica adequada, como indicado abaixo. Em nenhuma circunstância deve-se dar a entender que a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) endossa uma determinada organização, produto ou serviço. O uso do logotipo da OPAS não é autorizado.

Adaptação: No caso de adaptação desta obra, o seguinte termo de isenção de responsabilidade deve ser adicionado à referência bibliográfica sugerida: "Esta é uma adaptação de uma obra original da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). As perspectivas e opiniões expressadas na adaptação são de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es) da adaptação e não têm o endosso da OPAS".

Tradução: No caso de tradução desta obra, o seguinte termo de isenção de responsabilidade deve ser adicionado à referência bibliográfica sugerida: "Esta tradução não foi elaborada pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). A OPAS não é responsável pelo conteúdo ou rigor desta tradução".

Referência bibliográfica sugerida. *Pranchas para o diagnóstico de parasitos intestinais. Segunda edição. Washington, D.C.:* Organização Pan-Americana da Saúde; 2020. Licença: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Dados da catalogação na fonte (Cataloging in Publication - CIP). Os dados da CIP estão disponíveis em <http://iris.paho.org>.

Vendas, direitos e licenças. Para adquirir publicações da OPAS, acesse <http://publications.paho.org>. Para solicitar uso comercial e indagar sobre direitos e licenças, acesse <http://www.paho.org/permissions>.

Materiais de terceiros. Para a utilização de materiais nesta obra atribuídos a terceiros, como tabelas, figuras ou imagens, cabe ao usuário a responsabilidade de determinar a necessidade de autorização e de obtê-la devidamente do titular dos direitos autorais. O risco de indenização decorrente do uso irregular de qualquer material ou componente da autoria de terceiros recai exclusivamente sobre o usuário.

Termo geral de isenção de responsabilidade. As denominações utilizadas e a maneira de apresentar o material nesta publicação não manifestam nenhuma opinião por parte da OPAS com respeito ao estatuto jurídico de qualquer país, território, cidade ou área, ou de suas autoridades, nem tampouco à demarcação de suas fronteiras ou limites. As linhas pontilhadas e tracejadas nos mapas representam as fronteiras aproximadas para as quais pode ainda não haver acordo definitivo.

A menção a determinadas empresas ou a produtos de certos fabricantes não implica que sejam endossados ou recomendados pela OPAS em detrimento de outros de natureza semelhante não mencionados. Salvo erros ou omissões, os nomes de produtos patenteados são redigidos com a inicial maiúscula.

A OPAS adotou todas as precauções razoáveis para verificar as informações constantes desta publicação. No entanto, o material publicado está sendo distribuído sem nenhum tipo de garantia, seja expressa ou implícita. A responsabilidade pela interpretação e uso do material recai sobre o leitor. Em nenhum caso a OPAS será responsável por prejuízos decorrentes de sua utilização.

OPAS/CDE/VT-20-0004

Design e ilustração de Andrea Iacobuzio

Capa e contracapa: design gráfico de Marco Genchi, com base nas chaves de identificação da primeira edição.

Introdução

Esta segunda edição de *Pranchas para o diagnóstico de parasitos intestinais* destina-se ao uso tanto como ferramenta prática para o diagnóstico de parasitoses intestinais por profissionais de laboratório e de campo quanto como material de ensino para estudantes e estagiários. As pranchas têm duas faces: a frente com microfotografias para a identificação de ovos, larvas, trofozoítas, cistos e oocistos presentes nas fezes, e o verso dedicado aos diferentes métodos (procedimentos) copromicroscópicos e às principais técnicas de coloração usadas em parasitologia.

Dedicou-se atenção especial a todo o conteúdo gráfico e pictorial. A decisão de incluir o desenho de um ovo de *Ascaris lumbricoides* em seu tamanho relativo ao lado de cada estrutura parasitária cumpre a função de indicar as dimensões reais que o olho deve buscar ao examinar as amostras ao microscópio. Com cada imagem, são apresentados o tamanho do parasito e uma breve descrição para auxiliar a identificação microscópica.

Há também duas pranchas sinópticas, uma de helmintos e a outra de protozoários, com uma visão geral das diferentes apresentações dos elementos parasitários.

As pranchas foram produzidas em formato plastificado impermeável, resistente e fácil de usar na bancada. São recomendadas para todos os profissionais de saúde que atuam na rotina de diagnóstico de parasitoses intestinais.

prancha identificada pela cor

OPAS Pranchas para o diagnóstico de parasitos intestinais, segunda edição **Prancha 2 Nematoides**

imagem do parasito

breve descrição

Ancylostomidae – uncinaria (*Ancylostoma braziliense*, *A. caninum*, *A. duodenale*, *Necator americanus*) Não é possível diferenciar os ovos desses parasitos ao exame microscópico. Eles são ovais, amarelado-acinzentados e têm casca delgada. Nas fezes frescas, contêm uma mórlua com 4 a 8 células. Se mantidos em temperatura ambiente por algumas horas, surgirá um maior número de células (à direita). Tamanho: 60-75 x 35-40 µm

A. duodenale* e *N. americanus Cápsulas bucais dos parasitos adultos. Observe a diferença entre os dentes pontiagudos do *A. duodenale* e as placas cortantes semilunares do *N. americanus*. Fixados em formol e clarificados com álcool a 70% e glicerol

parasito usado como referência de dimensão: ovo de *Ascaris lumbricoides*

desenho esquemático do parasito e tamanho em relação ao ovo de *A. lumbricoides*

Boas práticas de laboratório e a biossegurança

Adiante são apresentados alguns procedimentos básicos e princípios de biossegurança que devem ser seguidos no laboratório. Para informações mais detalhadas, consulte:

<https://apps.who.int/iris/handle/10665/42981>

Em geral, o laboratório de parasitologia é classificado como nível de biossegurança 2 (NB-2) (ver, em inglês, <http://www.hse.gov.uk/pubns/misc208.pdf>). Isso requer a aplicação de boas práticas de laboratório, o uso de equipamento de proteção individual e a exibição do símbolo internacional de risco biológico. O laboratório deve ainda estar equipado com cabines de segurança biológica e ter procedimentos específicos de desinfecção e tratamento de material biológico, a serem usados também em caso de derramamento acidental. O acesso deve ser controlado e deve haver espaço suficiente para bancadas e equipamento de laboratório, organizados de modo a permitir a limpeza adequada. Deve haver instalações para armazenar roupas e objetos pessoais de todos os funcionários, bem como áreas para armazenamento de amostras, reagentes e equipamento. Além disso, é crucial que haja clara delimitação das áreas “limpas” e “sujas”, além de iluminação e ventilação adequadas; barreiras contra artrópodes se for possível abrir as janelas; fonte de água em local de fácil acesso; e bancadas, paredes e piso lisos, repelentes à água e de fácil limpeza e desinfecção. Por fim, o laboratório deve ser separado de vestiários e espaços de lazer do pessoal.

Os desinfetantes normalmente usados são hipoclorito de sódio, etanol ou isopropanol a 70% e compostos de quaternário de amônio. O hipoclorito de sódio é obtido com facilidade e tem baixo custo. Quando diluído a 5-10%, é apropriado para desinfetar bancadas e áreas de trabalho. Os álcoois são efetivos para descontaminar superfícies de aço inoxidável e remover resíduos de hipoclorito de sódio dos metais a fim de minimizar a corrosão. Os compostos de quaternário de amônio devem ser usados após remoção do material orgânico, que reduz sua efetividade.

Quanto ao descarte, em condições ideais todo material infectado ou potencialmente infectado deve ser descontaminado, esterilizado em autoclave ou incinerado no laboratório. Os recipientes para resíduos contaminados, inclusive aqueles fornecidos para descarte de objetos perfurocortantes, devem ser facilmente identificáveis e adequados a essa finalidade.

As regras laboratoriais básicas podem ser assim resumidas:

1. Manter as áreas de trabalho desobstruídas (p. ex., nunca colocar mochilas, bolsas, livros, etc. sobre a bancada do laboratório).
2. Lavar sempre as mãos com água e sabão ao entrar e sair do laboratório.
3. Usar sempre o jaleco quando estiver no laboratório e retirá-lo ao sair; os jalecos e a roupa pessoal não devem ser guardados no mesmo armário.
4. Usar sempre luvas ao manusear substâncias biológicas ou químicas potencialmente perigosas.
5. Usar óculos de segurança para proteção contra respingos, líquidos pulverizáveis e radiação ultravioleta.
6. Usar calçados adequados (nunca sandálias).
7. Manusear substâncias tóxicas (p. ex., formol) sob cabine de segurança.
8. Identificar claramente todas as preparações e amostras a serem analisadas.
9. Descartar todos os resíduos de maneira apropriada e segura.
10. Limpar e desinfetar a área de trabalho no início e no término de cada sessão laboratorial.
11. Não retirar do laboratório a prancheta, o bloco de notas, a caneta ou o lápis usados, pois podem estar contaminados.
12. Não armazenar alimentos nem bebidas no laboratório.
13. Não comer nem beber no laboratório, não levar as mãos nem outros objetos (como lápis, maquiagem, lentes de contato) à boca ou aos olhos.

Suprimentos laboratoriais básicos em parasitologia médica

Equipamento

- Microscópio, objetiva 4x, 10x, 40x, 100x
- Objetiva suplementar 20x, 60x
- Escala da ocular e lâmina micrométrica para calibração dos microscópios
- Centrífuga (se possível, com rotor para microplacas)
- Balança para laboratório
- Agitador magnético com aquecimento
- Refrigerador
- Estereomicroscópio (se possível)

Material

- Fita adesiva (transparente) e papel: 2 cm de largura
- Béqueres (plástico e vidro): 250 mL, 500 mL, 1.000 mL
- Frascos de Erlenmeyer
- Frascos: (plástico ou vidro): 25 mL, 30 mL, 50 mL, 100 mL, 250 mL, 500 mL, 1.000 mL, com rolhas ou tampas conta-gotas e tampas de rosca
- Tubos para centrífuga, cônicos, topo plano, graduados: 15 mL, 50 mL
- Tubos para centrifuga cônicos, plásticos, descartáveis: 12 mL
- Cilindro graduado: 10 mL, 25 mL, 50 mL, 100 mL, 250 mL, 1.000 mL
- Detergentes e desinfetantes
- Cubas de coloração, cubas de Coplin
- Frasco conta-gotas para solução salina, iodo, etc.
- Pinças e tesoura
- Funil (plástico e vidro)
- Gaze
- Placa de aquecimento
- Hidrômetro (densidade específica 1,10-1,40)
- Óleo de imersão, baixa viscosidade
- Marcadores permanentes, canetas, lápis
- Almofariz e pistilo (porcelana para laboratório)
- Luvas (látex ou nitrilo), descartáveis
- Filtro de membrana (12 µm ou 15 µm) e porta-filtro
- Lâmina para microscópio e lamínulas
- Toalhas de papel
- Pipetas de Pasteur e peras de borracha, pipeta eletrônica
- Placas de Petri (plástico e vidro)
- Pipetas (conta-gotas de plástico) descartáveis: capacidade da pipeta cheia 7 mL
- Pissetas: 100 mL, 250 mL, 500 mL
- Bastão (plástico)
- Bandeja para lâminas (plástico)
- Varetas para agitação
- Rack para tubos de centrífuga
- Formulários de registro e bloco de notas
- Etiquetas autoadesivas
- Coador de metal (coador de chá), 7,5 cm de diâmetro
- Cronômetro
- Aplicadores de madeira, swabs de algodão e abaixadores de língua

Reagentes

- Cromótopo 2R
- Ácido acético glacial
- Água destilada
- Etanol: 70%, 95%, 100%
- Acetato de etila
- Formaldeído (37-40%)
- Glicerol
- Ácido clorídrico (HCl)
- Cristais de iodo (I₂)
- Verde claro FS
- Verde-malaquita
- Iodeto de potássio (KI)
- Solução salina
- Acetato de sódio
- Azul de metileno

Soluções

- Carbofucsina: liquefazer 5 g de cristais de fenol em pequena quantidade de água destilada, em banho-maria a 95 °C. Dissolver 1 g de fucsina básica no fenol liquefeito. Acrescentar 10 mL de etanol a 95% e misturar. Acrescentar 100 mL de água destilada. Filtrar e armazenar em frasco escuro, bem identificado. A solução está pronta para uso.
- Formol a 5%: 50 mL de formaldeído + 950 mL de água destilada ou solução salina (recomendada para uso universal e para preservação de cistos de protozoários).
- Formol a 10%: 100 mL de formaldeído + 900 mL de água destilada ou solução salina (recomendada para ovos e larvas de helmintos).
- Solução de Lugol: 2 g de iodeto de potássio (KI) + 1,5 g de cristais de iodo pulverizados (acrescentar depois de dissolver o KI) + 100 mL de água destilada. Armazenar em frasco com rolha de vidro âmbar em temperatura ambiente e no escuro; a validade é de 1 ano. A solução está pronta para uso. Para uso rotineiro, colocar 20 mL em frasco conta-gotas âmbar durante 10-14 dias.
- SAF (fixador com acetato de sódio, ácido acético e formol): 1,5 g de acetato de sódio + 2,0 mL de ácido acético glacial + 4 mL de formol + 92,0 mL de água destilada.

Soluções de flutuação

Cloreto de sódio saturado (NaCl), densidade específica (de) 1,20: 1.000 mL de água morna + 500 g de NaCl, dissolver em agitador magnético de um dia para o outro. Verificar a densidade específica com hidrômetro.

Solução saturada de cloreto de sódio (NaCl), de 1,20

Ancilostomídeos *Hymenolepis* spp.
Ascaris lumbricoides *Taenia* spp.
(*Trichuris* spp.)
Trichostrongylus spp.
Strongyloides stercoralis
Enterobius vermicularis

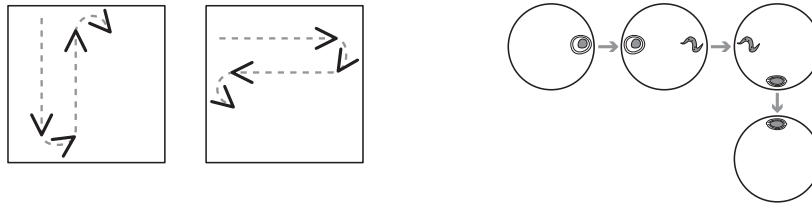
Sulfato de zinco (ZnSO₄ 7H₂O), densidade específica (de) 1,35: 685 mL de água + 685 g de sulfato de zinco, dissolver em agitador magnético de um dia para o outro. Verificar a densidade específica com hidrômetro.

Sulfato de zinco (ZnSO₄ 7H₂O), de 1,35

Ascaris lumbricoides *Dientamoeba fragilis*
Trichuris spp. *Blastocystis hominis*
Fasciola hepatica *Entamoeba* spp.
Schistosoma mansoni *Endolimax nana*
Dicrocoelium dendriticum *Giardia duodenalis*
Balantidium coli *Enteromonas hominis*

Exame microscópico

O método clássico de pesquisa de ovos e larvas de helmintos (e ciliados) usa a objetiva de 10×. Toda a preparação é examinada. Desse modo, o trabalho deve ser sistemático. Comece sempre em um ângulo da lamínula e avance em linha reta do ângulo escolhido até o lado oposto. Ao chegar lá, passe para a fileira adjacente e siga no sentido oposto, fazendo isso até examinar toda a preparação. Ao avançar, sempre examine o próximo campo microscópico com uma pequena sobreposição: depois de examinar um campo, escolha um objeto nesse campo e posicione-o no lado oposto do próximo campo. Então, examine esse segundo campo. Ao encontrar estruturas parasitárias, examine os detalhes com a objetiva de 40×.



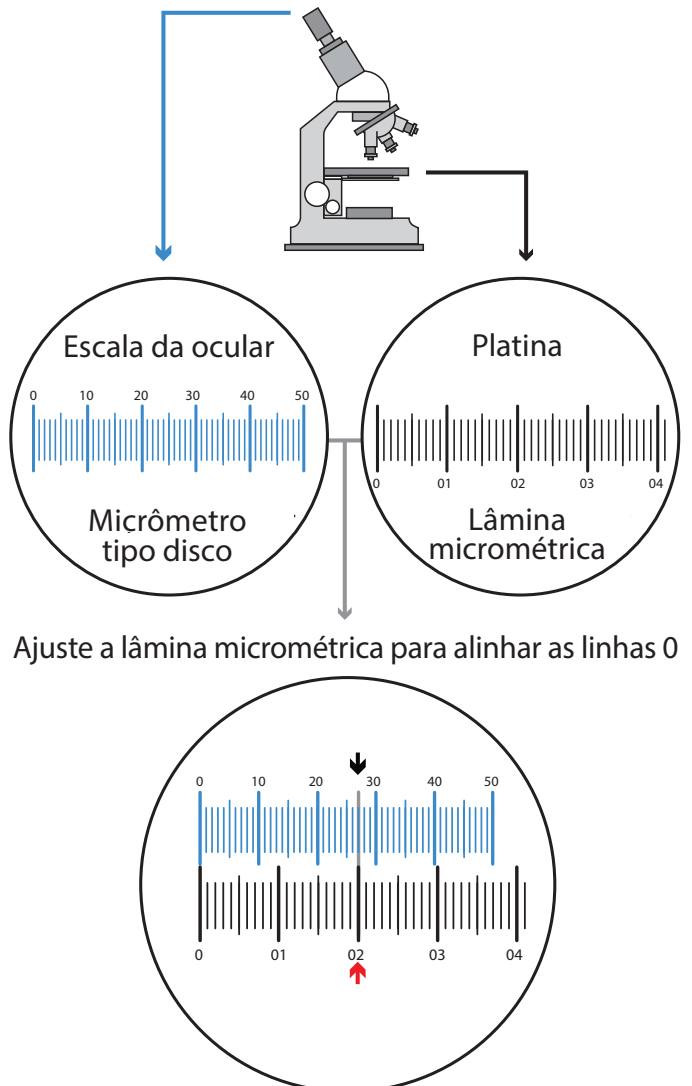
Para pesquisa da maioria dos protozoários, usa-se a objetiva de 40×. Da mesma maneira descrita anteriormente, devem-se examinar algumas fileiras superpostas (3 ou 4). Para a identificação morfológica, pode-se usar imersão em óleo e cobrir o esfregaço com solução de Lugol. Para a diferenciação de espécies, é preciso medir trofozoítas e/ou cistos.

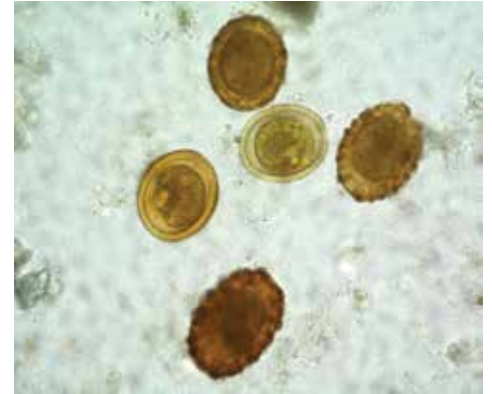
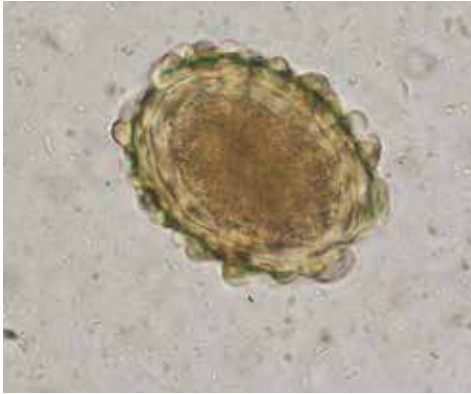
Calibração da ocular micrométrica

Para medir as estruturas no campo microscópico, é necessário ter uma escala de medição na ocular. Essa escala deve ser calibrada antes do uso.

Instruções

1. Retire a ocular (10× ou outra) do microscópio e colocar a escala sobre o diafragma no interior da ocular. Atarraxe a lente de volta e reinsira a ocular no microscópio.
2. Coloque a lâmina micrométrica sobre a platina e focalize a escala.
3. Ajuste a lâmina micrométrica movimentando a platina até que a linha 0 da ocular micrométrica esteja exatamente sobre a linha 0 da lâmina micrométrica.
4. Sem mover a lâmina micrométrica, encontre outro ponto na extrema direita onde haja sobreposição exata de duas outras linhas. Esse segundo par de linhas sobrepostas deve estar na posição mais à direita possível em relação às linhas 0.
5. Conte o número de linhas divisórias na ocular micrométrica entre a linha 0 e o ponto onde está superposto o segundo par de linhas. No exemplo da figura, esse número, indicado pelas setas pretas, equivale a 27 unidades da ocular.
6. Depois conte o número de linhas divisórias de 0,1 mm entre a linha 0 e a segunda linha sobreposta na lâmina micrométrica; na figura, esse número, indicado pela seta vermelha, é igual a 0,2 mm.
7. Para calcular o tamanho representado por uma unidade da ocular: $1 \text{ unidade da ocular} = (0,2 \text{ mm}/27) \times 1.000 = 7,4 \mu\text{m}$.
8. Portanto, $1 \text{ unidade da ocular} = 7,4 \mu\text{m}$ para essa objetiva específica. Cada objetiva do microscópio deve ser calibrada separadamente.
9. Depois de calibrar todas as objetivas, prepare uma tabela simples com o fator de calibração para cada objetiva.

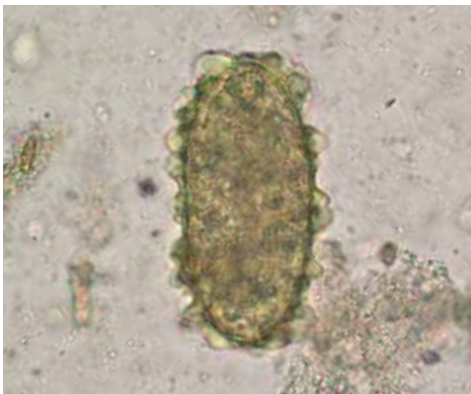




Ascaris lumbricoides Ovo fértil (à esquerda), observado em fezes frescas; ovo infectante (à direita), que contém larva após um período de embrião de 2-4 semanas. Formato arredondado, cor amarela a castanha, com casca espessa e camada mamilonada. Tamanho: 45-75 × 35-40 µm



A. lumbricoides Ovos férteis, com ou sem a camada mamilonada (ovos "decorticados"). Observar a cor mais clara dos ovos decorticados



A. lumbricoides Os ovos inférteis são alongados e maiores que os ovos férteis, a casca é mais delgada e o tamanho da camada mamilonada é mais variável (à esquerda). O ovo contém material desorganizado, composto de uma massa amorfa de grânulos refringentes. Às vezes, esses ovos são decorticados (à direita). Tamanho: 85-95 × 38-45 µm

A. lumbricoides Larva infectante de um ovo rompido



Trichuris trichiura Ovo em formato de barril, amarelo a castanho, com casca lisa e proeminências bipolares típicas (rolhas). À direita, observa-se um ovo infectante que contém a larva. Tamanho: 50-55 × 20-25 µm



T. trichiura Ovo, formato atípico



Capillaria spp. Observe o formato assimétrico do ovo

C. philippinensis Ovo amarelado, em formato de barril, com casca estriada e duas rolhas polares pouco visíveis. Tamanho: 35-45 × 20-25 µm



C. aerophila Ovo acinzentado, em formato de barril, com casca delgada e rolhas bipolares pouco visíveis. Tamanho: 59-80 × 30-40 µm



Ovos de **Ascaris** (à esquerda), **Trichuris** (em cima) e **Capillaria** (à direita)

Concentração (sedimentação e flutuação)

Esses procedimentos possibilitam a detecção de elementos parasitários (ovos, larvas, oocistos e cistos) que podem não ser detectados ao exame direto a fresco do esfregaço.

Concentração por sedimentação com formol-acetato de etila

Este procedimento leva à recuperação de todos os cistos e oocistos de protozoários, ovos e larvas de helmintos presentes na amostra de fezes; é recomendado como o de mais fácil realização e o menos sujeito a erros técnicos, permitindo a detecção da maior variedade de elementos parasitários. A amostra de fezes pode ser fresca ou fixada. Com frequência, a preparação conterá mais resíduos que a obtida por flutuação e outros procedimentos.

Nota: esta técnica não é recomendada para ovos de *Fasciola spp.* e larvas de *Strongyloides stercoralis*.

Procedimento

1. Misturar cerca de 1 g de fezes (tamanho de uma avelã) com 10 mL de fixador (SAF ou formol a 5–10%) e aguardar pelo menos 30 minutos.
2. Coar a suspensão dentro de tubo cônico de 15 mL, com uma peneira ou camada dupla de gaze apoiada sobre um pequeno funil e centrifugar a 500 g durante 10 minutos.
3. Remover o sobrenadante e quebrar o sedimento com um palito de dente de madeira.
4. Acrescentar 7 mL de solução salina ao sedimento, tampar o tubo e misturar.
5. Acrescentar 3 mL de acetato de etila (ou gasolina ou éter; Atenção: é necessário cuidado especial ao manusear esses reagentes, pois são voláteis e podem causar explosão), fechar o tubo com rolha de borracha (verificar se está bem fechado) e agitar vigorosamente durante 30 segundos.
6. Esperar 15 a 30 segundos e retirar a tampa com cuidado.
7. Centrifugar a 500 g durante 3 minutos.
8. O conteúdo do tubo será separado em quatro camadas, do fundo: sedimento (com os elementos parasitários), solução salina, tampão de resíduos fecais e camada superior de acetato de etila (ou éter ou gasolina).
9. Descolar o tampão de resíduos da parede de tubo com a ajuda de um bastão aplicador. Inverter o tubo com um movimento rápido para despejar as três camadas superiores.
10. Misturar o sedimento ao líquido restante (se necessário, acrescentar algumas gotas de solução salina).
11. Colocar uma gota do sedimento sobre uma lâmina e cobrir com lamínula. Pode-se colocar uma preparação corada com Lugol sobre a mesma lâmina.
12. Examinar ao microscópio.



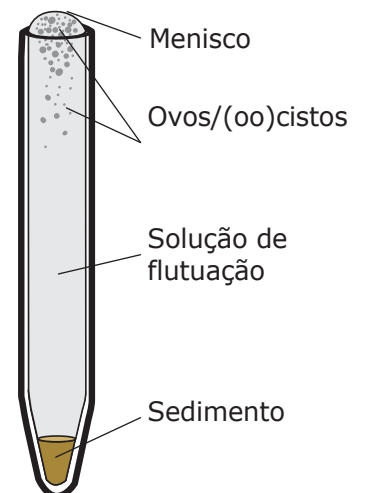
Concentração por flutuação

A técnica de flutuação possibilita a separação de elementos parasitários dos resíduos orgânicos mais grosseiros, com auxílio de uma solução de flutuação com alta densidade específica. Ovos, cistos e oocistos, com uma densidade específica menor que a da solução de flutuação, ascenderão até a parte superior da suspensão. A amostra de fezes pode ser fresca ou fixada. As soluções de flutuação mais usadas são a solução de sulfato de zinco e o cloreto de sódio (ver Introdução 3).

Nota: ovos pesados como os de *Fasciola* ou ovos inférteis de *Ascaris* não são concentrados eficientemente por essa técnica. Além disso, ovos e cistos tendem a perder o formato característico após 40–60 minutos.

Procedimento

1. Acrescentar cerca de 3 g de fezes a 10 mL de formol a 5–10 %, misturar bem e deixar em repouso durante pelo menos 30 minutos.
2. Filtrar a suspensão através de uma peneira ou camada dupla de gaze e despejar em tubo de ensaio cônico até cerca de 1 cm abaixo da borda.
3. Centrifugar durante 3 minutos a 1500 g e descartar o sobrenadante.
4. Ressuspender o sedimento em solução salina com uma pipeta e repetir o passo 3.
5. Ressuspender o sedimento em 10 mL de solução de flutuação com uma pipeta e centrifugar durante 5 minutos a 800–1.000 g.
6. Retirar o tubo da centrífuga e acrescentar algumas gotas de solução de flutuação até que se forme um menisco.
7. Após cerca de 10 minutos, colocar sobre o menisco uma lamínula para colher sua parte superior; em seguida, colocar a lamínula com essa face voltada para baixo sobre uma lâmina e examinar ao microscópio.



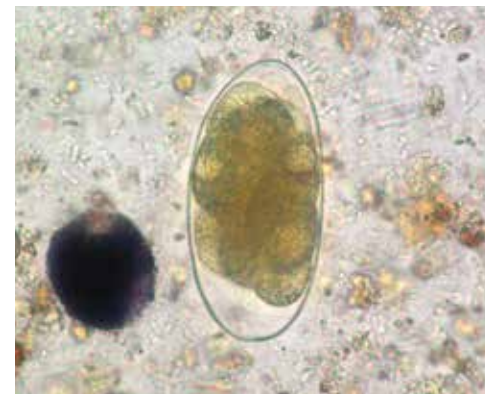
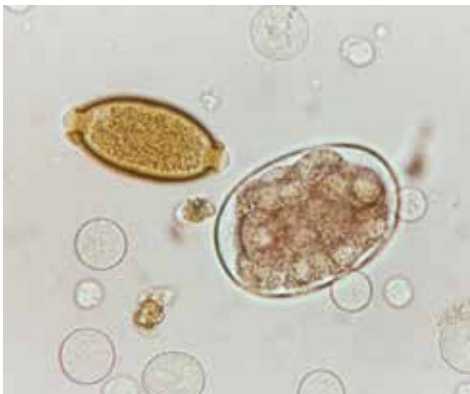
Nota: podem-se acrescentar algumas gotas de Lugol à lâmina para evidenciar detalhes morfológicos dos parasitos, como de cistos de *Giardia*.



Ancylostomidae - uncinaria (*Ancylostoma braziliense*, *A. caninum*, *A. duodenale*, *Necator americanus*) Não é possível diferenciar os ovos desses parasitos ao exame microscópico. Eles são ovais, amarelo-acinzentados e têm casca delgada. Nas fezes frescas, contêm uma mórula com 4 a 8 células. Se mantidos em temperatura ambiente por algumas horas, surgirá um maior número de células (à direita). Tamanho: 60-75 × 35-40 µm



A. duodenale* e *N. americanus Cápsulas bucais dos parasitos adultos. Observe a diferença entre os dentes pontiagudos do *A. duodenale* e as placas cortantes semilunares do *N. americanus*. Fixados em formol e clarificados com álcool a 70% e glicerol



***Trichuris* (à esquerda) e *Ancylostomidae* (à direita)** Ovos no mesmo campo microscópico mostram os diferentes tamanhos

***Trichostrongylus* spp. (*T. orientalis*, *T. colubriformis*, *T. axei*)** Ovos de formato ovoide, com uma extremidade pontiaguda, amarelo-acinzentados, com parede delgada, muito semelhantes aos ovos de anquilostomídeos, mas um pouco maiores. A mórula interna pode ser formada por um número variável de blastômeros. Tamanho: 75-95 × 40-50 µm

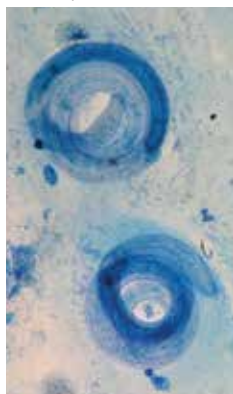


Strongyloides stercoralis Ovos de formato ovoide, acinzentados, com parede delgada, já abrigando uma larva quando eliminados nas fezes, onde às vezes podem ser vistos. Tamanhos: 50-58 × 30-34 µm



S. stercoralis Larva rabditiforme (L1) corada com Lugol. Observe o primórdio genital (seta, à esquerda). Vista de perto da extremidade cefálica (à direita), note o esfago rabditoide e a cavidade bucal curta. Tamanho: 180-380 × 14-20 µm

S. stercoralis Detalhe da extremidade caudal de uma larva rabditiforme (L1) com cauda afilada (à esquerda, Lugol) e larva filariforme (L3) com cauda entalhada (à direita, não corada)



S. stercoralis Larvas rabditiformes (L1) após sedimentação de Baermann (não coradas, à esquerda) e larvas filariformes (L3) em escarro (coloração de Ziehl-Neelsen, à direita)

***Enterobius vermicularis* - oxiúro** Ovos de formato ovoide, assimétricos, que geralmente contêm uma larva. À direita, ovos coletados com fita adesiva. Tamanho: 50-60 × 20-30 µm



E. vermicularis Fêmea adulta; note as expansões cefálicas e a cauda pontiaguda. As fêmeas aderidas ao ânus estão repletas de ovos. O tamanho da fêmea é 8-13 × 0,3-0,5 mm; o tamanho do macho é 2,5 × 0,1-0,2 mm

Concentração (flutuação)

Técnica de McMaster

A técnica de McMaster é usada para identificar e quantificar o número de elementos parasitários por grama de fezes: ovos por grama (opg), oocistos por grama (oopg), cistos por grama (cpg), larvas por grama (lpg). A amostra pode ser de fezes frescas ou fixadas. É usada uma lâmina para microscópio especial com uma retícula, que facilita a contagem.

Procedimento com centrifugação da amostra

1. Homogeneizar a amostra de fezes.
2. Pesar 2 g de fezes dentro do béquer em uma balança e diluir em 28 mL de água de torneira.
3. Coar a suspensão através de um coador de chá ou camada dupla de gaze.
4. Misturar a suspensão, vertendo-a 10 vezes de um béquer para outro, e encher um tubo de ensaio de 15 mL até alguns centímetros abaixo da borda.
5. Centrifugar a 1500 g durante 3 minutos.
6. Desprezar o sobrenadante e encher o tubo até o nível anterior com a solução de flutuação (ver Introdução 3).
7. Misturar muito bem a suspensão com uma pipeta e encher o primeiro compartimento ("A") da câmara de McMaster. Não deixe nenhum líquido na pipeta, pois os ovos subirão rapidamente no líquido de flutuação.
8. Repetir o passo 7 e encher o segundo compartimento ("B").
9. Esperar 2 minutos.
10. Examinar um compartimento ao microscópio e multiplicar por 100 o número de elementos parasitários sob uma área marcada. Outra opção é examinar os dois compartimentos e multiplicar por 50 para obter o número de elementos parasitários por grama de fezes: opg, oopg, cpg, lpg.

Se não dispuser de centrífuga, é possível realizar o procedimento sem centrifugação, mas o exame da lâmina pode ser mais difícil em razão da maior quantidade de resíduos.

Procedimento sem centrifugação da amostra

1. Homogeneizar a amostra de fezes.
2. Pesar 2 g de fezes e diluir em 28 mL de solução de flutuação (ver Introdução 3).
3. Coar a suspensão 3 vezes através de uma peneira.
4. Misturar a suspensão, despejando-a 10 vezes de um copo para outro.
5. Encher o primeiro compartimento da câmara de McMaster com auxílio de uma pipeta. Não deixar líquido na pipeta, pois os ovos subirão rapidamente no líquido de flutuação.
6. Repetir o passo 4 e encher a segunda câmara.
7. Esperar 2 minutos.
8. Examinar um compartimento ao microscópio e multiplicar por 100 o número de elementos parasitários sob uma área marcada. Outra opção é examinar os dois compartimentos e multiplicar por 50 para obter o número de elementos parasitários por grama de fezes: opg, oopg, cpg, lpg.

Nota: ao término do procedimento, colocar a câmara em água com sabão e desinfetante, depois limpar, enxaguar e secar.

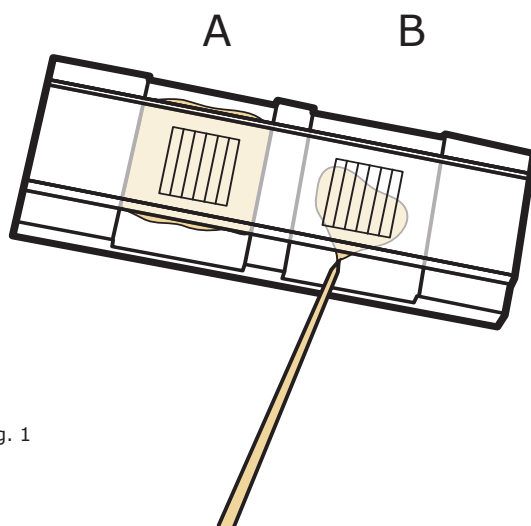


Fig. 1

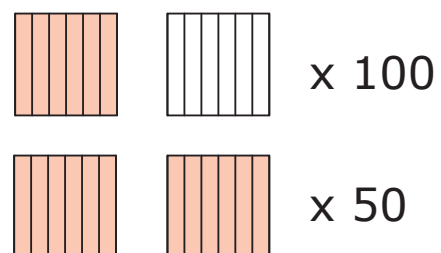


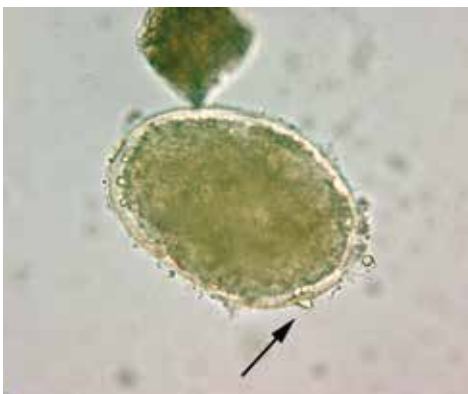
Fig. 2



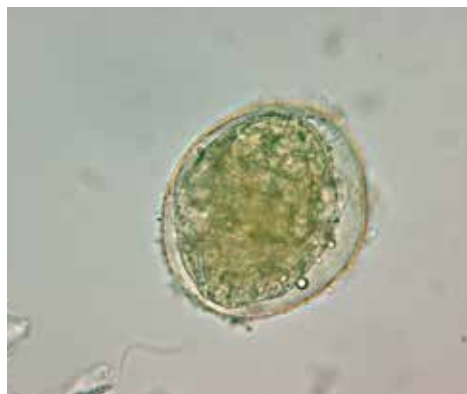
Schistosoma mansoni Ovo de formato oval e alongado, com espícula lateral característico, que pode ou não ser observado dependendo da posição do ovo. Uma extremidade polar, afilada e levemente curva. Eles são cinza-amarelados, têm parede delgada e contêm um miracídio. À direita, ovo calcificado. Tamanho: 114-180 × 45-70 µm



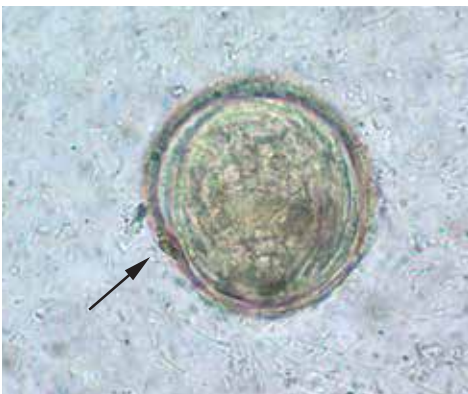
S. mansoni (centro) e **Ancylostomatidae** (em cima e embaixo). Ovos no mesmo campo microscópico mostram os diferentes tamanhos. Coloração por Lugol



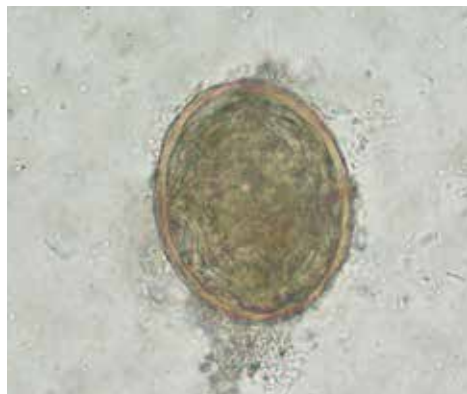
S. japonicum Ovos arredondados, semelhantes aos de *S. mansoni*, porém menores. Eles têm uma pequena espícula lateral inconspícua (seta, à esquerda). Os ovos são cinza-amarelados, têm parede delgada e contêm um miracídio. Com frequência, a posição do ovo pode encobrir o espícula (à direita). Tamanho: 70-100 × 55-64 µm



S. japonicum Ovo de formato alongado. Muitas vezes, a espícula lateral está oculta



S. mekongi Ovos de formato quase esférico, semelhantes aos de *S. japonicum*, mas menores. Eles têm uma pequena espícula inconspícua (seta, à esquerda), que muitas vezes não é visível (à direita). Os ovos são cinza-amarelados, a parede é mais espessa que a de outros ovos de esquistossomo. Contêm um miracídio. Tamanho: 50-80 × 40-65 µm



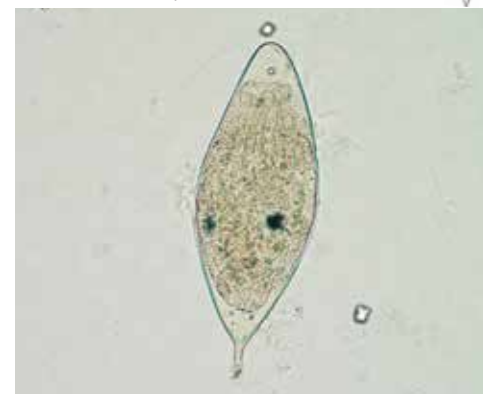
S. intercalatum Ovos em formato de losango, às vezes com uma saliência equatorial. Eles têm uma espícula terminal proeminente, parede delgada e contêm um miracídio. Tamanho: 104-203 µm



S. mansoni Adultos, a delgada fêmea aloja-se no canal ginecóforo do macho, mais espesso. Os adultos alojam-se em plexos venosos



S. mansoni Adultos, fêmea delgada e macho mais espesso



S. haematobium Em geral, esses ovos são encontrados na urina, mas às vezes também ocorrem nas fezes. Tamanho: 110-170 µm

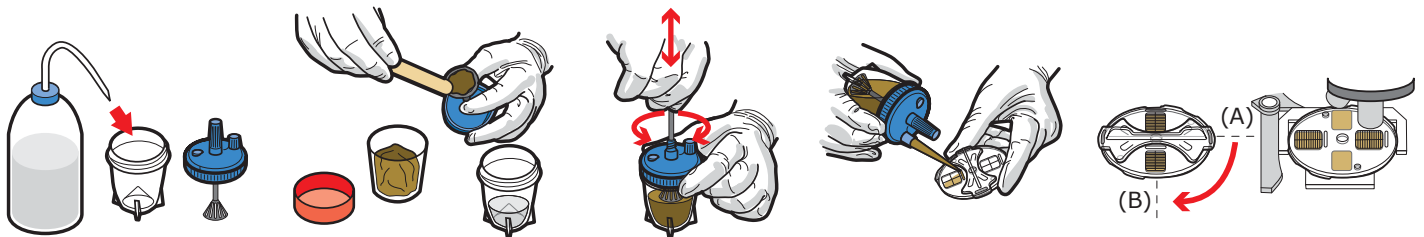
Concentração (flutuação)

Técnicas Mini-FLOTAC

A técnica Mini-FLOTAC é uma evolução lógica da FLOTAC, concebida para realizar o diagnóstico polivalente, qualitativo e quantitativo muito acurado de elementos parasitários (ovos, larvas, oocistos e cistos) em amostras de fezes; é especialmente adequada para contextos de recursos limitados. Já o Fill-FLOTAC é um sistema fechado criado para facilitar a realização dos quatro primeiros passos consecutivos das técnicas Mini-FLOTAC: coleta e pesagem da amostra de fezes, homogeneização, filtração e preenchimento das câmaras Mini-FLOTAC (www.parassitologia.unina.it/flotac/, em inglês).

Procedimento para fezes frescas

1. Acrescentar 38 mL de solução de flutuação (ver Introdução 3) (razão de diluição 1:20) no recipiente Fill-FLOTAC (que tem uma escala graduada).
2. Homogeneizar cuidadosamente a amostra fecal misturando com espátula de madeira e, depois, encher o coletor cônico (2 g de fezes) do Fill-FLOTAC.
3. Fechar o Fill-FLOTAC e homogeneizar a suspensão fecal bombeando o coletor cônico para cima e para baixo (10 vezes) no frasco e, ao mesmo tempo, girando-o para a direita e para a esquerda.
4. Colocar a ponteira no orifício lateral do Fill-FLOTAC. Inverter o Fill-FLOTAC 5 vezes, para misturar a amostra, e encher as câmaras de flutuação do Mini-FLOTAC.
5. Após 10 minutos, usar a chave para girar o disco de leitura no sentido horário até que ele pare (cerca de 90°), de modo a separar os elementos parasitários flutuantes dos resíduos fecais. Retirar a chave e examinar o Mini-FLOTAC ao microscópio. O fator de multiplicação usado para calcular o número de ovos, larvas, oocistos e cistos por grama de fezes é 10.



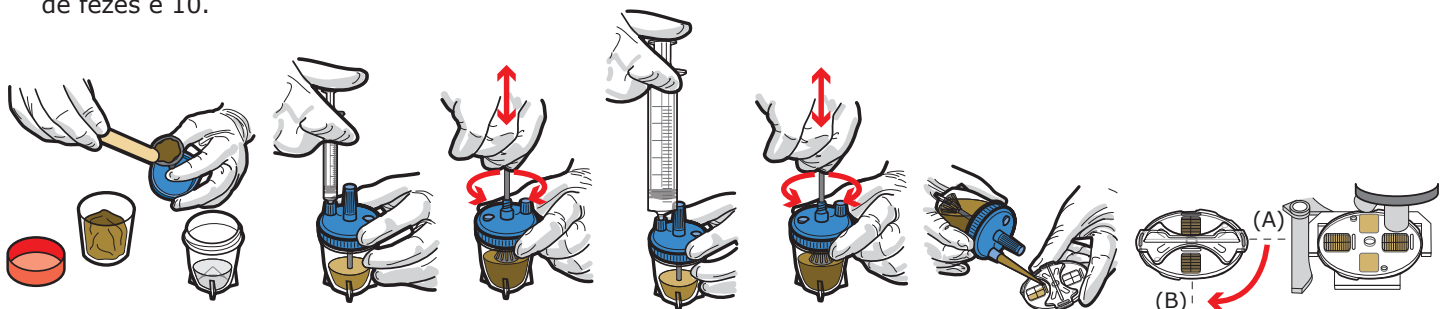
Sensibilidade analítica e fator de multiplicação =

10 opg, lpg, oopg, cpg



Procedimento para fezes fixadas

1. Homogeneizar cuidadosamente a amostra fecal, misturando com espátula de madeira, e encher o coletor cônico (2 g de fezes) do Fill-FLOTAC.
2. Para preservar a amostra, acrescentar 2 mL de formol a 5% no frasco Fill-FLOTAC.
3. Homogeneizar a suspensão fecal no fixador, bombeando o coletor cônico para cima e para baixo (10 vezes) no frasco e, ao mesmo tempo, girando-o para a direita e para a esquerda. Para uma análise mais acurada, as amostras podem ser armazenadas em temperatura ambiente em formol a 5% durante 21 dias.
4. Para a análise da amostra, acrescentar solução de flutuação (ver Introdução 3) até 40 mL (razão de diluição 1:20) no frasco Fill-FLOTAC (que tem uma escala graduada).
5. Homogeneizar a suspensão fecal, bombeando o coletor cônico para cima e para baixo (10 vezes) no frasco e, ao mesmo tempo, girando-o para a direita e para a esquerda.
6. Colocar a ponteira no orifício lateral do Fill-FLOTAC. Inverter o Fill-FLOTAC 5 vezes para misturar a amostra e encher as duas câmaras de flutuação do Mini-FLOTAC.
7. Após 10 minutos, usar a chave para girar o disco de leitura no sentido horário até que ele pare (cerca de 90°), de modo a separar os elementos parasitários flutuantes dos resíduos fecais. Retirar a chave e examinar o Mini-FLOTAC ao microscópio. O fator de multiplicação usado para calcular o número de ovos, larvas, oocistos e cistos por grama de fezes é 10.



Sensibilidade analítica e fator de multiplicação =

10 opg, lpg, oopg, cpg

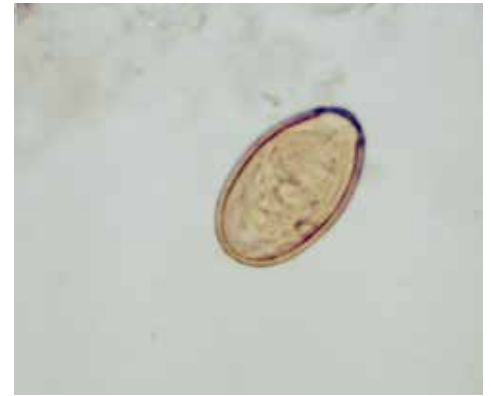




Clonorchis sinensis Os ovos são operculados e contêm um miracídio. Na extremidade abopercular, às vezes se vê um pequeno botão. Os ovos de *Opisthorchis* e *Metagonimus* são muito semelhantes aos de *C. sinensis*. Tamanho: 27-35 x 11-20 µm



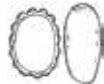
Opisthorchis spp. Os ovos são operculados e contêm um miracídio. Na extremidade abopercular, às vezes se vê um pequeno botão. Os ovos de *Clonorchis* e *Metagonimus* são muito semelhantes aos de *Opisthorchis*. Tamanho: 26-30 x 11-15 µm



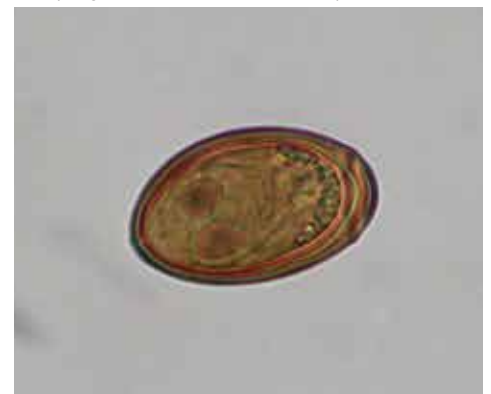
Metagonimus yokogawai Os ovos são operculados e contêm um miracídio. Na extremidade abopercular, às vezes se vê um pequeno botão. Os ovos de *Clonorchis* e *Opisthorchis* são muito semelhantes aos de *M. yokogawai*. Tamanho: 26-30 x 15-20 µm



Paragonimus westermani Às vezes, os ovos são assimétricos, com um opérculo proeminente. Os ovos são não embrionados e podem ser encontrados no escarro. Às vezes são encontrados nas fezes. Tamanho: 80-120 x 45-70 µm



Paragonimus uterobilateralis Os ovos têm formato oval, geralmente são menores e têm um opérculo menos proeminente que os de *P. westermani*. Tamanho: 50-95 x 35-55 µm



Dicrocoelium dendriticum Ovos assimétricos e ovais, castanho-escuros, com parede espessa, operculados e contêm um miracídio. Tamanho: 35-45 x 20-30 µm



Fasciola hepatica Ovos elipsoides, amarelados e de parede delgada. Com frequência, o opérculo é indistinto. Os ovos são não embrionados quando eliminados nas fezes e não é fácil diferenciá-los dos ovos de *Fasciolopsis buski*, *F. gigantica*, *Echinostoma* spp. e *Gastrodiscoides hominis*. Tamanho: 130-145 x 70-90 µm



F. hepatica Após flutuação com solução de sulfato de zinco, o ovo é esmaga e é difícil reconhecê-lo



F. hepatica Cercárias (à esquerda), presentes no ambiente aquático e a metacercária infectante (à direita), encistada em vegetação aquática

Da esquerda para a direita: **C. sinensis**, **P. westermani**, **D. dendriticum**, **F. hepatica** y **F. buski**
adultos. Barra = 1 cm

Concentração (sedimentação)

Técnica de Baermann

Esta técnica possibilita a concentração e detecção de larvas de *Strongyloides* spp. e trofozoítas de *Balantidium* spp. nas fezes. O aparelho de Baermann consta de um funil de vidro (14 cm de diâmetro) equipado com um tubo de borracha macia de 10 cm, obliterado em uma extremidade por pinça.

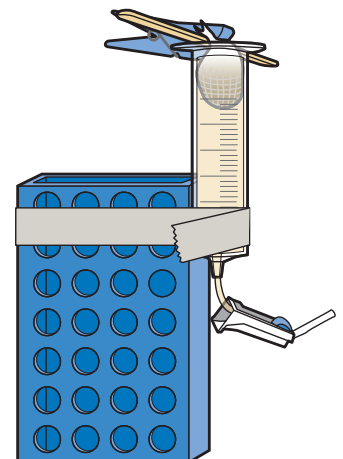
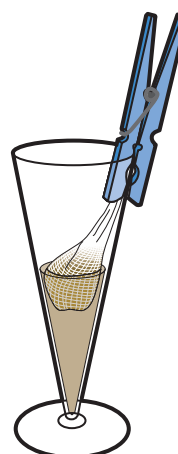
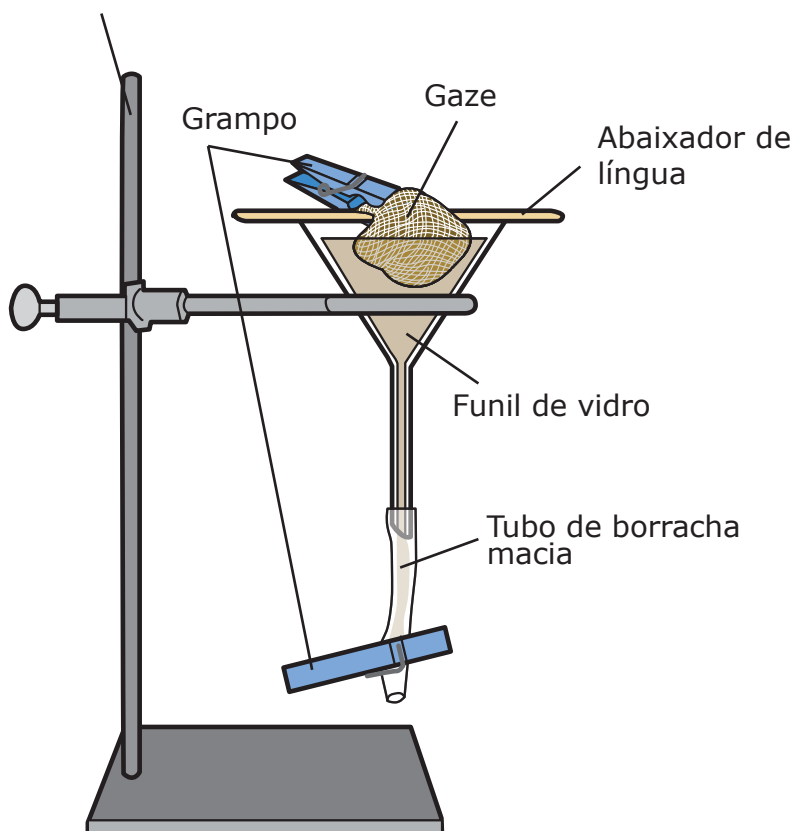
Nota: somente amostras de fezes frescas, não fixadas e não refrigeradas podem ser processadas. Use sempre luvas durante todos os procedimentos.

Procedimento

1. Homogeneizar a amostra de fezes; se as fezes estiverem muito duras, acrescentar alguns mililitros de solução salina.
2. Coletar cerca de 10 g (tamanho de um damasco) de fezes e colocar dentro de duas camadas de gaze. Em caso de fezes diarreicas, colocar sobre a gaze um disco de papel filtro com vazão média. Manter a gaze suspensa dentro do funil, com o auxílio de um bastão, como um abaixador de língua de madeira, ou colocando-a sobre um coador de chá de aço.
3. Encher o funil quase até a borda com água ou solução salina morna.
4. Pode-se colocar uma fonte de iluminação sob o aparelho de Baermann para promover a migração das larvas.
5. Após cerca de 2 a 3 horas, abrir a pinça na extremidade do tubo e transferir cerca de 10 mL do sedimento para um tubo cônico.
6. Centrifugar o tubo a 500 g durante 10 minutos.*
7. Descartar o sobrenadante.
8. Com uma pipeta, transferir algumas gotas do sedimento para uma lâmina.
9. Antes de examinar a lâmina ao microscópio, pode-se acrescentar uma gota de solução iodada de Lugol para corar e imobilizar as larvas.
10. Examinar ao microscópio com objetiva de 10x.

* Caso não se disponha de centrífuga, pode-se transferir uma pequena quantidade de sedimento diretamente para uma lâmina, se desejar, com uma gota de solução de Lugol.

Suporte para
o funil



Dois alternativas ao aparelho de Baermann. Na imagem à esquerda, usa-se um copo plástico de sedimentação; nesse caso, as larvas são coletadas do fundo com uma pipeta comprida. Na imagem à direita, usa-se uma seringa de 50 mL e um equipo intravenoso.



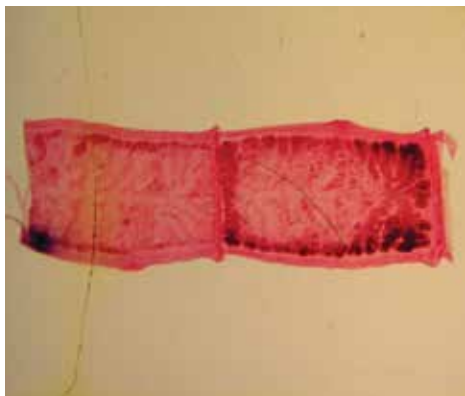
Diphyllobothrium latum Ovo operculado (ponta de seta), nunca embrionado quando eliminado nas fezes. Na extremidade abopercular, às vezes é possível ver um botão (seta). Tamanho: 67-71 x 40-51 µm



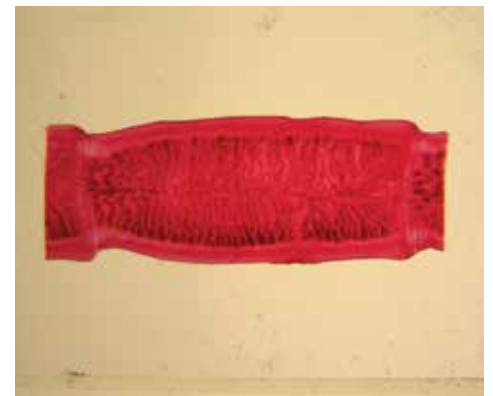
Diphyllobothrium spp. Os adultos são de cor marfim e medem até 10 m de comprimento e 1,5 cm de largura. As proglotes maduras grávidas têm largura maior que o comprimento e exibem um útero em forma de roseta típico, visível no meio de cada proglote. Os ovos saem da proglote madura através do poro genital e podem ser vistos ao exame microscópico das fezes. Não corado



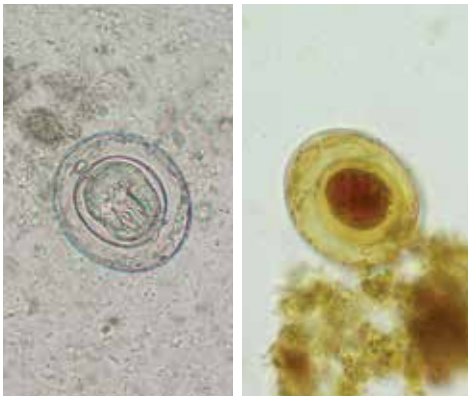
Taenia spp. O ovo tem uma casca radiada muito espessa (embrióforo), às vezes circundada por vitelo (seta). Podem-se ver três pares de ganchos dentro da larva (oncosfera). Não é possível diferenciar o ovo de espécies de Taenia. Tamanho: 30-35 µm



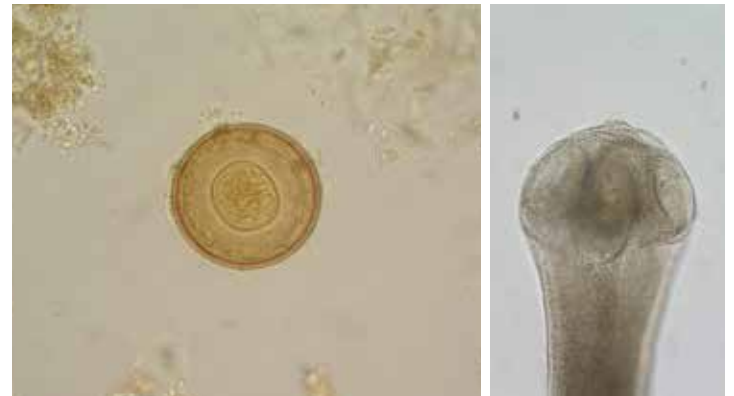
T. solium Proglotes coradas. Os adultos são de cor marfim e têm até 2-7 m de comprimento. As proglotes maduras têm comprimento maior que a largura e são caracterizadas por 7-13 ramos uterinos unilaterais. As proglotes maduras são eliminadas com as fezes. Coloração com carmim



T. saginata Proglote corada. Os adultos são de cor marfim e têm até 5 m de comprimento. As proglotes maduras têm comprimento maior que a largura e são caracterizadas por 14-32 ramos uterinos unilaterais. As proglotes maduras deixam ativamente o hospedeiro. Coloração com carmim



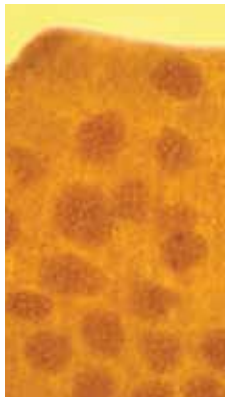
Hymenolepis nana Ovo esférico a oval, cinza, com membrana externa delgada. À esquerda: preparação não corada; no meio: preparação com Lugol. Na membrana interna, às vezes podem se observar dois espessamentos polares. É possível ver três pares de ganchos dentro da oncosfera. Tamanho: 30-50 µm. O verme adulto apresenta escólex armado (à direita). Tamanho: 1,5-4,4 cm



Hymenolepis diminuta Ovo esférico a oval, cinza-amarelado com membrana externa mais escura e às vezes estriada. É possível ver três pares de ganchos dentro da oncosfera. À esquerda: ovo na preparação com Lugol; à direita: extremidade cefálica do adulto. Tamanho dos ovos: 70-85 x 60-80 µm. Tamanho dos adultos: 20-60 cm



Dipylidium caninum Três proglotes não coradas. Os adultos são de cor marfim, com até 50 cm de comprimento, com proglotes típicas que se assemelham a grãos de arroz



D. caninum Detalhes de uma proglote madura (à esquerda), onde é possível observar as cápsulas do ovo (centro), contendo as oncosferas com ganchos (à direita). Tamanho do ovo com o embrião hexacanto: 25-50 µm



Cultura de nematoides em estágio larval

Cultura em tira de papel-filtro de Harada–Mori

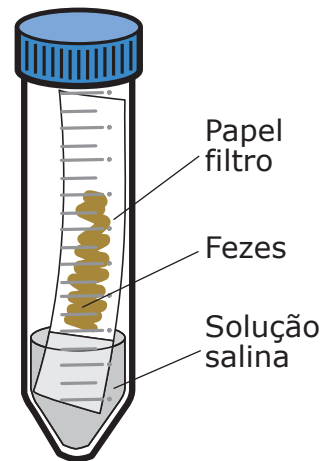
Essas técnicas são usadas identificar infecções por ancilostomídeos, *S. stercoralis* y *Trichostrongylus* spp.

Nota: só podem ser processadas amostras de fezes frescas, não fixadas e não refrigeradas.

Procedimento

1. Acrescentar solução salina às fezes sólidas ou semissólidas para torná-las pastosas.
2. Duplicar aproximadamente o volume de fezes por acréscimo de carvão vegetal granulado e misturar bem.*
3. Cortar, de um disco de papel-filtro, uma tira de 12 cm com a mesma largura de um tubo de 15 mL.
4. Verter 3–4 mL de solução salina em um tubo de 15 mL.
5. Espalhar a amostra de fezes com espátula de madeira sobre uma área de 4–5 cm no meio da tira de papel, deixando limpas as extremidades (cerca de 4 cm de cada lado).
6. Inserir a tira no tubo evitando o contato das fezes com a solução salina.
7. Cortar o papel-filtro em excesso fora do tubo e fechar o tubo com rolha ou tampão de algodão.
8. Armazenar o tubo em rack a 24–28 °C durante 10 dias e cuidar diariamente para que o nível de solução salina seja mantido.
9. Abrir o tubo e descartar a tira de papel.
10. Com uma pipeta, transferir a solução para outro tubo e acrescentar 12 mL de formol a 5%.
11. Depois de 1 hora, centrifugar a 500 g durante 2 minutos e descartar o sobrenadante.
12. Ressuspender o sedimento com uma pipeta, colocar uma gota da solução sobre uma lâmina, cobrir com lamínula e examinar ao microscópio. Pode-se acrescentar uma gota de solução de Lugol para corar e evidenciar detalhes morfológicos.

* O carvão vegetal não é indispensável; porém, seu uso aumenta a sensibilidade da técnica.



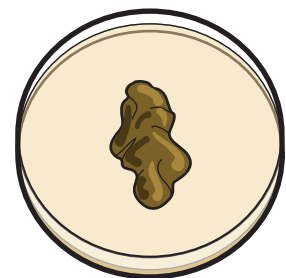
Técnica em placa de ágar de Koga

A cultura em placa de ágar é considerada o método mais eficiente para a detecção de larvas de *S. stercoralis* e deve ser a técnica de escolha, principalmente em pacientes imunocomprometidos.

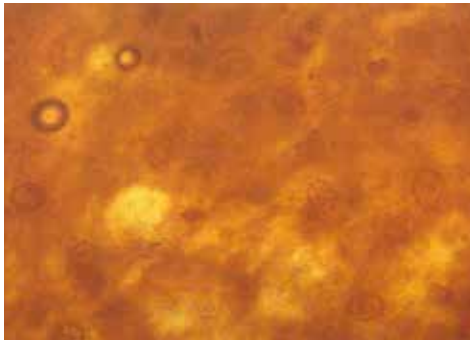
Procedimento

1. Acrescentar solução salina às fezes sólidas ou semissólidas para torná-las pastosas.
2. Duplicar aproximadamente o volume de fezes por acréscimo de carvão vegetal granulado e misturar bem.*
3. Colocar cerca de 6–7 g de fezes no meio de uma placa de Petri com meio de ágar (1,5% de ágar, 0,5% de extrato de carne, 1,0% de peptona e 0,5% de NaCl). Acrescentar no máximo 10 mL de meio por placa, de modo a obter uma camada delgada.
4. Vedar a placa com fita adesiva e armazenar por 48 horas em local escuro em temperatura de 26–33 °C. Para detecção de ancilostomídeos, aumentar o tempo de incubação para 7 dias.
5. Examinar a placa com estereomicroscópio à procura de larvas e/ou dos rastros deixados por elas no meio. Se positivo, cobrir o ágar com formol a 5% e deixar em repouso durante 30–60 minutos.
6. Com a pipeta, transferir o líquido para um tubo, centrifugar a 500 g durante 2 minutos e descartar o sobrenadante.
7. Ressuspender o sedimento com uma pipeta, colocar uma gota da solução sobre uma lâmina, cobrir com lamínula e examinar ao microscópio. Pode-se acrescentar uma gota de solução de Lugol para evidenciar detalhes morfológicos.

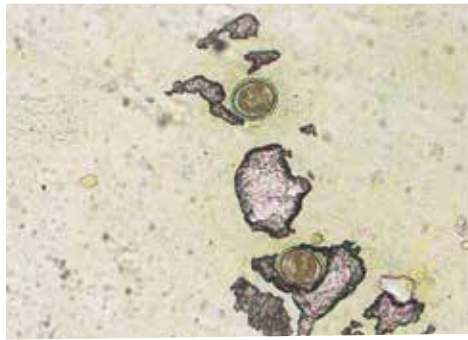
* O carvão vegetal não é indispensável; porém, seu uso aumenta a sensibilidade da técnica.



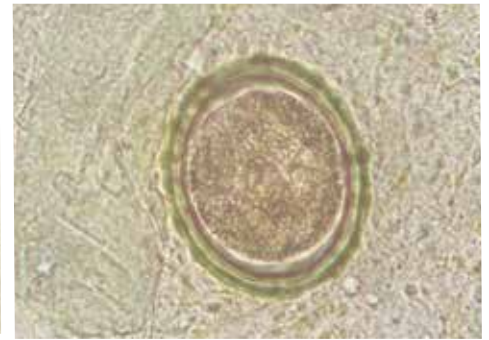
Aparência dos ovos de alguns parasitos em uma preparação de Kato-Katz



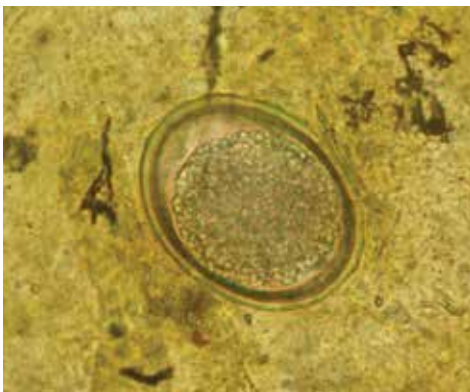
Ascaris lumbricoides Esfregaço espesso de Kato-Katz no processo de clarificação. São necessários mais alguns minutos para clarificação completa. Alguns ovos estão ocultos ao fundo



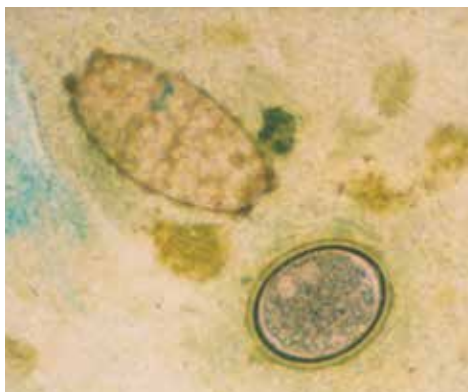
A. lumbricoides Dois ovos visíveis em meio ao ar aprisionado no esfregaço. Preparação de Kato-Katz



A. lumbricoides Ovo fértil típico em preparação de Kato-Katz



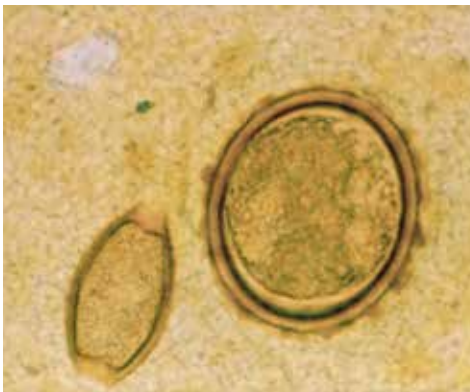
A. lumbricoides Ovo decorticado em preparação de Kato-Katz



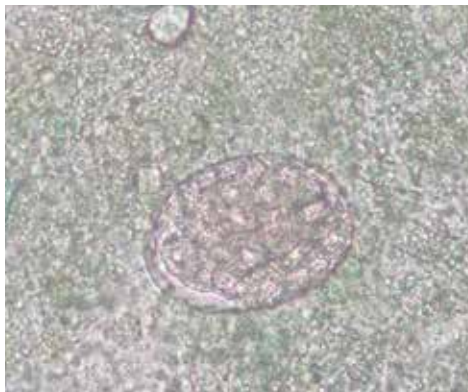
A. lumbricoides Ovo fértil (embaixo) e infértil (em cima) em preparação de Kato-Katz



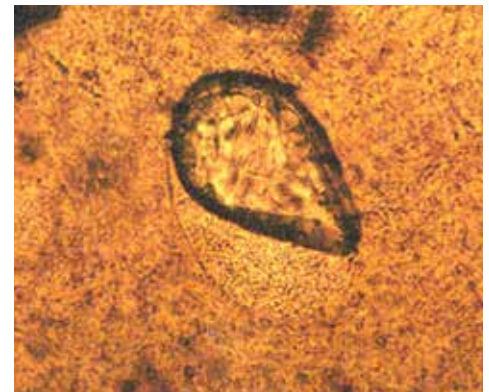
Trichuris trichiura Ovos em preparações de Kato-Katz podem parecer maiores e mais volumosos que os ovos de *A. lumbricoides* observados com outras técnicas, com conteúdo degenerado. As proeminências bipolares nem sempre são bem definidas



T. trichiura e A. lumbricoides Ovo em preparação de Kato-Katz



Ancylostomidae Ovos em preparação de Kato-Katz costumam ser quase redondos e, durante o processo de clarificação, torna-se cada vez mais difícil vê-los



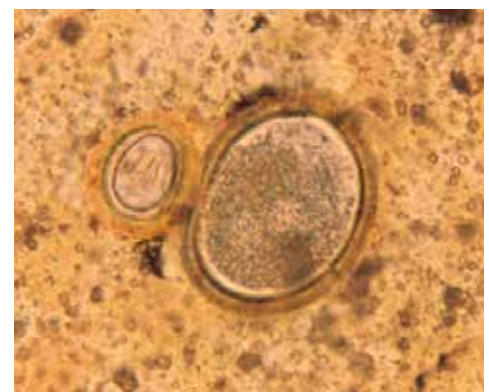
Ancylostomidae Ovo mantido por muito tempo em preparação de Kato-Katz antes do exame. Bolha de ar aprisionada e ovo quase desaparecendo



Schistosoma mansoni Os ovos são facilmente identificados pelo tamanho, formato e presença de espícula lateral. Preparação de Kato-Katz



S. japonicum Raramente se observa a espícula do ovo e o miracídio desaparece rapidamente. O tamanho e a espessura da casca ajudam a identificar a espécie. Preparação de Kato-Katz



Taenia spp. e A. lumbricoides Ainda é possível ver os ganchos dentro do ovo de *Taenia*. Preparação de Kato-Katz

Esfregaço fecal espesso em celofane

Técnica de Kato-Katz para geo-helmintos

A técnica de Kato-Katz é o método de diagnóstico recomendado para monitorar programas de tratamento em larga escala implementados para o controle de geo-helmintíases em razão de to sua simplicidade e facilidade de uso no campo. Outras opções de técnicas são McMaster e FLOTAC.

Existem no mercado kits de diagnóstico para uso imediato no campo.

Material e reagentes

1. Aplicadores de madeira.
2. Tela (aço inoxidável, nylon, plástico ou papel-cartão: malha de 60–105 μm) (Fig. 1).
3. Molde (aço inoxidável, plástico ou papel-cartão) (Fig. 1). Um orifício de 9 mm em molde com 1 mm de espessura obtém cerca de 50 mg de fezes; um orifício de 6 mm em molde com 1,5 mm de espessura, 41,7 mg; e um orifício de 6,5 mm em molde com 0,5 mm de espessura, 20 mg. Deve-se usar sempre o mesmo tamanho de molde para garantir a repetibilidade e a comparabilidade dos dados de prevalência e intensidade.
4. Espátula (plástico) (Fig. 1).
5. Lâminas para microscópio (75 x 25 mm).
6. Celofane hidrofílico (40–50 μm de espessura, tiras de 25 x 30 ou 25 x 35 mm).
7. Frasco de fundo plano com tampa, pinça e papel higiênico ou absorvente.
8. Jornal.
9. Solução de verde-malaquita em glicerol (acréscimo de 1 mL de solução aquosa de verde-malaquita a 3% a 100 mL de glicerol e 100 mL da água destilada, misturando bem). Essa solução é vertida sobre as tiras de celofane em um frasco e deixada em repouso durante pelo menos 24 horas antes do uso.

Procedimento

1. Colocar uma quantidade pequena da amostra de fezes sobre um jornal e comprimir com um pedaço de tela de nylon. Com uma espátula, raspar o material fecal peneirado da tela (Fig. 2).
2. Identificar uma lâmina de vidro com o número da amostra e colocar um molde perfurado sobre o centro de uma lâmina para microscópio. Preencher o orifício do molde com o material fecal peneirado, evitando bolhas de ar e nivelando as fezes para remover o excesso (Fig. 3).
3. Levantar cuidadosamente o molde e colocar em um recipiente com água, detergente concentrado e desinfetante para que possa ser reutilizado.
4. Colocar um pedaço de celofane, imerso desde o dia anterior na solução de glicerol, sobre a amostra de fezes (Fig. 4).
5. Inverter a lâmina (Fig. 5) e comprimir com firmeza a amostra contra a tira de celofane sobre outra lâmina ou sobre uma superfície lisa e dura para espalhar as fezes, formando um círculo (Fig. 6).
6. Com cuidado, pegar a lâmina novamente, deslizando-a lateralmente com delicadeza para não separar ou levantar a tira de celofane. Colocar a lâmina sobre a bancada com o celofane voltado para cima. A água evapora enquanto o glicerol clarifica as fezes. Depois da clarificação, deve ser possível ler o jornal através do esfregaço de fezes (Fig. 7).
7. Exceto para pesquisa de ovos de ancilostomídeos, mantenha a lâmina por uma hora ou mais em temperatura ambiente para clarificação do material fecal antes do exame microscópico. Para acelerar a clarificação e o exame, a lâmina pode ser colocada em incubadora a 40 C° ou exposta à luz solar direta por vários minutos.
8. Os ovos de *A. lumbricoides* e *T. trichiura* continuarão visíveis e identificáveis por muitos meses. Os ovos de ancilostomídeos são clarificados rapidamente e deixarão de ser visíveis após 30–60 minutos. Os ovos de esquistossomo podem ser identificados por vários meses, mas é preferível examinar as lâminas em 24 horas.
9. Depois do exame sistemático do esfregaço, multiplique pelo número apropriado para calcular o número de ovos por grama de fezes (por 20 com o molde de 50 mg; por 50 com o molde de 20 mg; e por 24 com o molde de 41,7 mg).

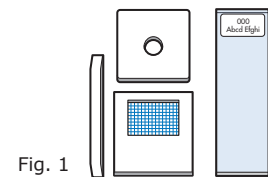


Fig. 1

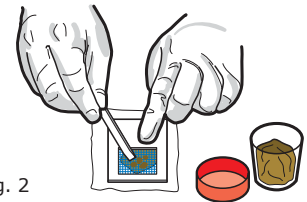


Fig. 2

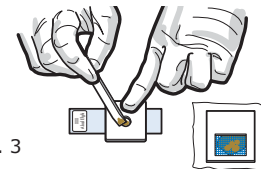


Fig. 3



Fig. 4



Fig. 5

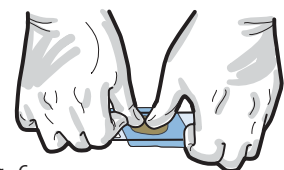


Fig. 6

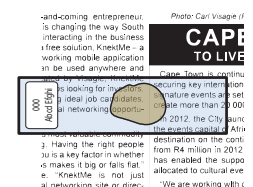
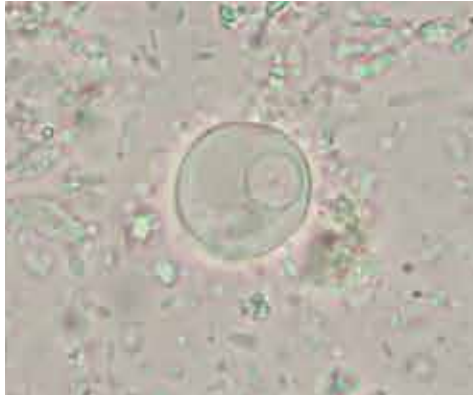
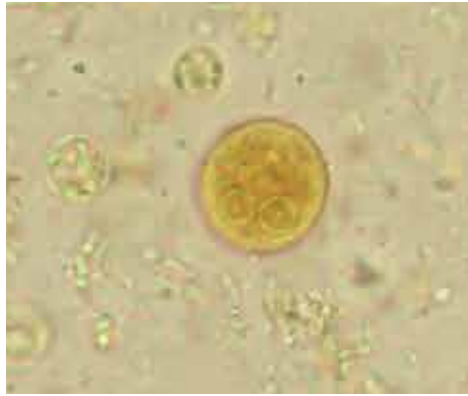


Fig. 7

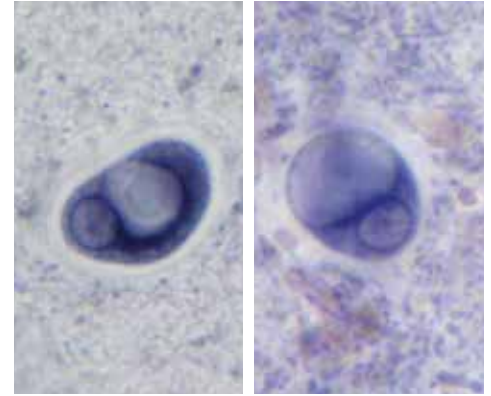
and-coming entrepreneur is changing the way South Africa interacts in the business world. KneXMe - a free solution, KneXMe - a working mobile application in use anywhere and everywhere. KneXMe is not just a networking site or event. We are working with CAPI TO LIVE



Entamoeba histolytica/E. dispar Cisto imaturo, 1 núcleo, não corado. Tamanho: 12-15 µm



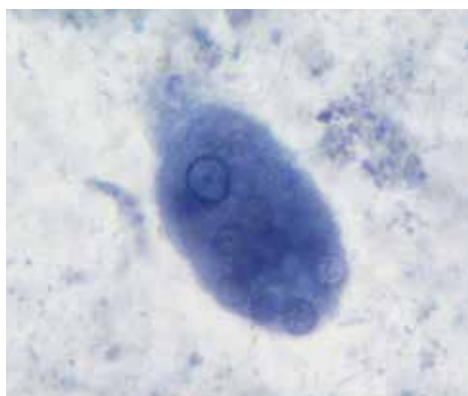
E. histolytica/E. dispar Cisto imaturo, 2 núcleos. Observe que os cistos maduros têm 4 núcleos. Lugol



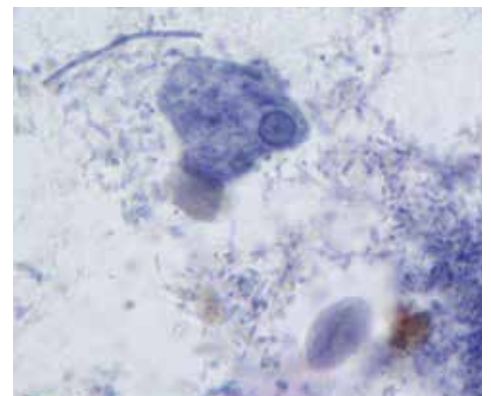
E. histolytica/E. dispar Cistos imaturos, 1 núcleo, com vacúolo de glicogênio. Coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun



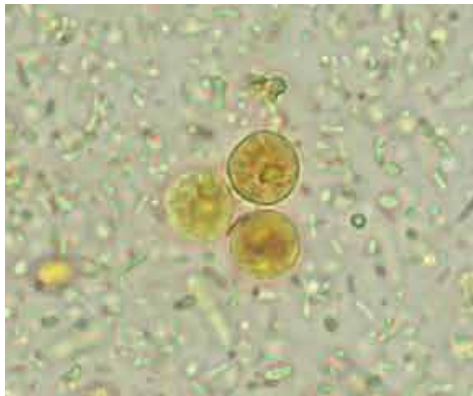
E. histolytica Trofozoíta hematófago contendo hemácias. Em geral, os trofozoítas medem 15-20 µm (variação de 10-60 µm) e tendem a ser mais alongados em fezes diarreicas. Hemácias fagocitadas também podem estar presentes na *E. dispar*



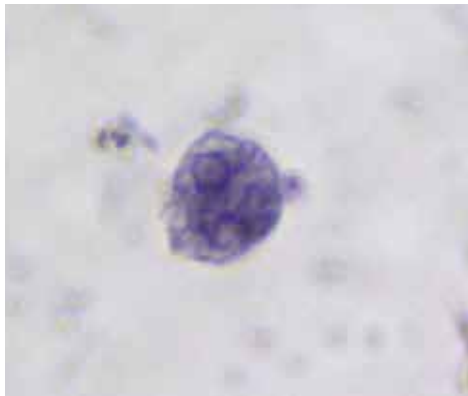
E. histolytica Trofozoíta hematófago com núcleo pequeno típico e cariossoma compacto central; a cromatina periférica é distribuída por igual sobre a membrana nuclear e muitas hemácias ingeridas. Coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun



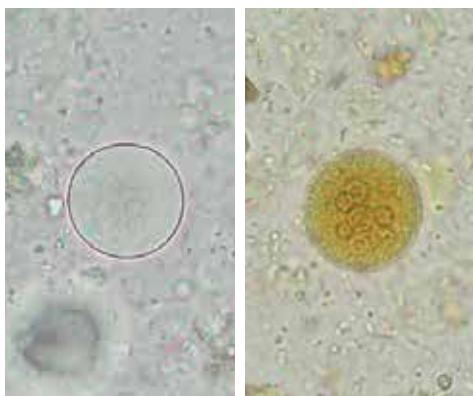
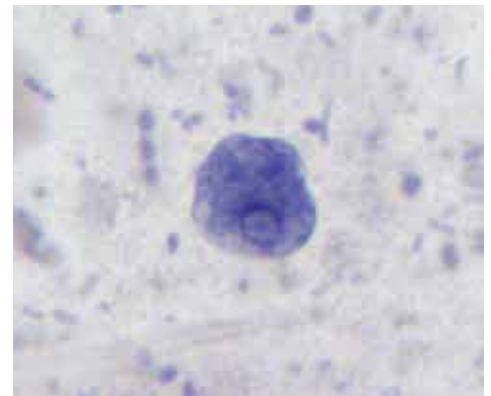
E. histolytica/E. dispar Trofozoíta, e cisto de ***Giardia duodenalis*** (tamanho: 8-14 × 6-10 µm), em coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun. Cistos e trofozoítas não hematófagos de *E. histolytica* e *E. dispar* não podem ser distinguidos ao microscópio



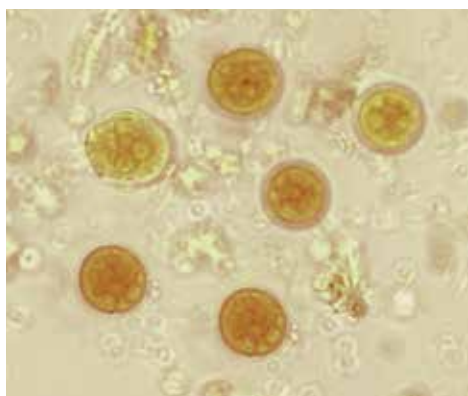
E. hartmanni Os cistos são semelhantes aos de *E. histolytica*, porém menores (variação de 5-10 µm); esse é um elemento fundamental para o diagnóstico diferencial. Lugol



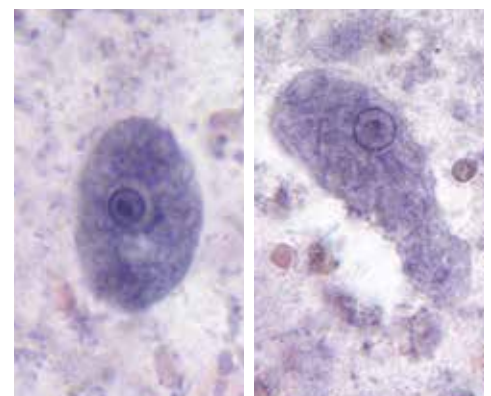
E. hartmanni Trofozoítas. Coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun. Tamanho: 5-15 µm



E. coli Cistos maduros com mais de 4 núcleos visíveis. À esquerda: não corado; à direita: Lugol



E. coli Cistos maduros. Lugol. Tamanho: 10-35 µm



E. coli Trofozoítas. Coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun. Observe o cariossoma central mais espesso em comparação com trofozoítas de *E. histolytica/E. dispar*. Tamanho: 15-50 µm

Esfregaço fecais diretos

Preparações a fresco com solução salina e iodo

Esses procedimentos são usados principalmente para detectar trofozoítas móveis e larvas, hemácias, leucócitos, cristais de Charcot-Leyden (preparação salina) e cistos de protozoários (preparação de iodo, Lugol). Ao examinar fezes diarreicas ou líquidas contendo muco, devem-se aplicar as duas preparações à parte mucosa das fezes.

Procedimento

1. Colocar 1 gota de solução salina no lado esquerdo da lâmina e 1 gota de solução de Lugol (ver Prancha 3) no lado direito da lâmina (Fig. 1).
2. Retirar cerca de 2 mg da amostra de fezes (a quantidade colhida com a extremidade de um bastão aplicador) e emulsionar totalmente as fezes na gota de solução salina (Fig. 2).
3. Repetir esse passo acrescentando uma porção semelhante da amostra à gota de iodo (usar aplicadores diferentes para cada gota). O iodo matará eventuais organismos presentes; portanto, não se observará motilidade.
4. Colocar uma lamínula sobre cada suspensão, tocando a borda da gota; depois, abaixar suavemente a lamínula sobre a lâmina para que não se formem bolhas de ar.
5. Examinar ao microscópio.

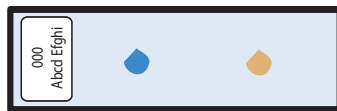


Fig. 1

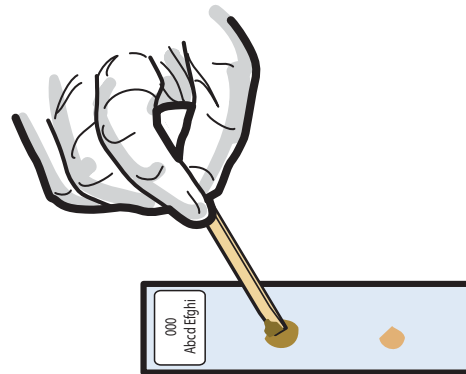


Fig. 2

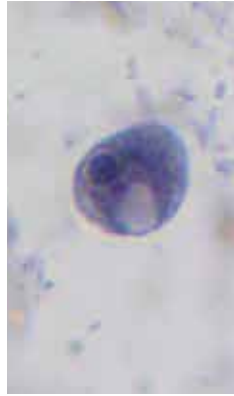
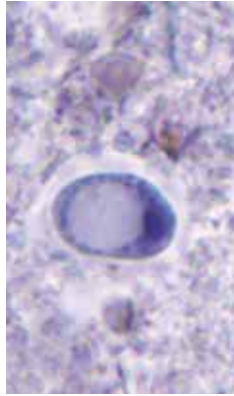
Coloração negativa de Heine

Essa preparação temporária é útil para o rastreamento rápido de *Cryptosporidium* spp. Amostras questionáveis ou falsamente positivas podem ser confirmadas pela coloração de Ziehl-Neelsen modificada.

Procedimento

1. Colocar 2 gotas de fezes diarreicas ou de consistência mole sobre uma lâmina.
2. Acrescentar 2 gotas de carbolfucsina e misturar bem.
3. Espalhar o material de maneira uniforme, deslizando uma segunda lâmina sobre a primeira para obter um esfregaço delgado.
4. Deixar a lâmina secar ao ar.
5. Quando seca, colocar imediatamente 2 gotas de óleo de imersão sobre a preparação e cobrir com lamínula.
6. Examinar com a objetiva de 40× e condensador em posição (levemente) abaixada.

Nota: as lâminas devem ser examinadas sem demora, uma vez que os oocistos se deterioram rapidamente. Os oocistos serão observados como estruturas altamente refringentes e não coradas sobre fundo corado de rosa.

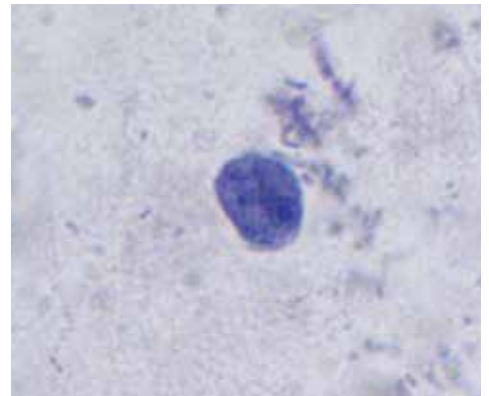
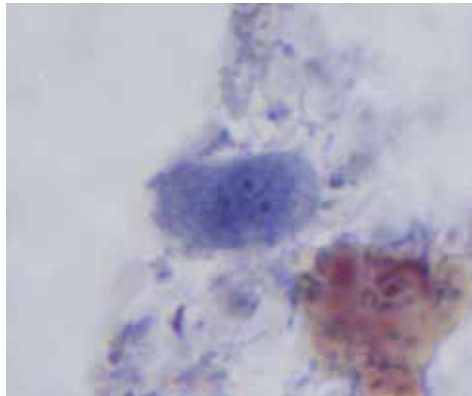


Iodamoeba bütschlii À esquerda: cisto não corado, vacúolo de glicogênio quase imperceptível; à direita: cistos, vacúolos de glicogênio de coloração escura nitidamente visíveis, Lugol. Tamanho: 5-20 µm



I. bütschlii Cistos. Observe o núcleo único e o vacúolo de glicogênio: Coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun

I. bütschlii Trofozoíta, não corado. Tamanho: 8-20 µm

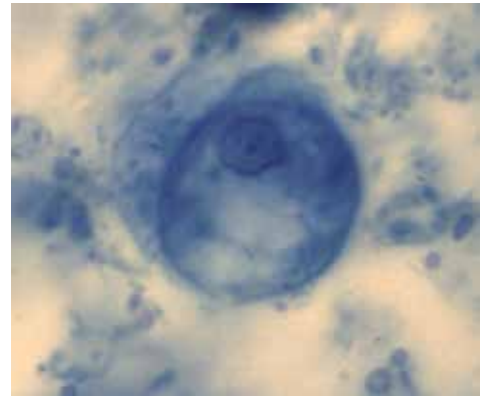
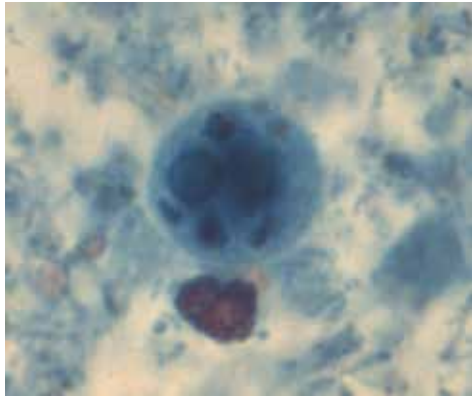
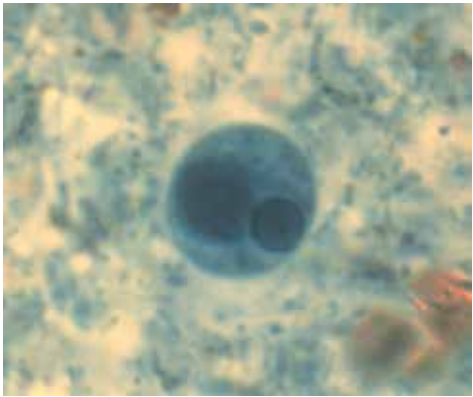


Endolimax nana Cistos. À esquerda: com 4 núcleos cada, quase inteiramente ocupados por um grande cariossoma, os quais são refringentes ao exame microscópico a fresco, não corado; à direita: Lugol. Tamanho: 5-10 µm



E. nana Cisto. Três dos quatro núcleos são visíveis. Coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun

E. nana Trofozoíta mostrando núcleo grande com cariossoma redondo. A membrana nuclear, de maneira característica, não tem cromatina periférica. Coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun. Tamanho: 6-12 µm

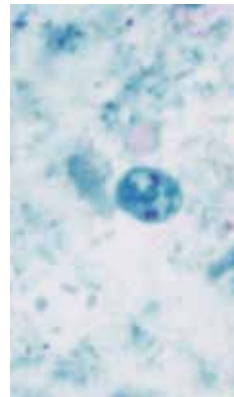
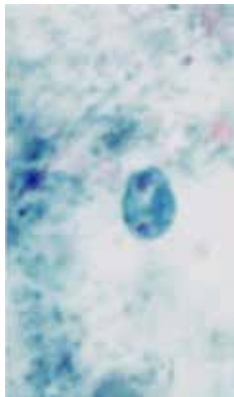
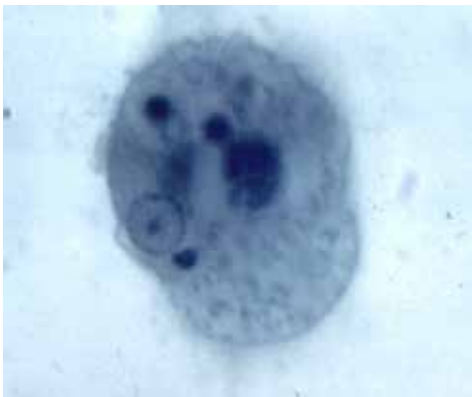


Entamoeba polecki Cisto uninucleado. Coloração tricrômica. A *E. polecki* é, junto com a *E. moshkovskii* e a *E. bangladeshi*, morfologicamente idêntica à *E. histolytica/E. dispar*. Tamanho: 9-25 µm



E. polecki Cisto uninucleado. Coloração tricrômica. A *E. polecki* é, junto com a *E. moshkovskii* e a *E. bangladeshi*, morfologicamente idêntica à *E. histolytica/E. dispar*

E. polecki Trofozoíta. Coloração tricrômica. A *E. polecki* é, junto com a *E. moshkovskii* e a *E. bangladeshi*, morfologicamente idêntica à *E. histolytica/E. dispar*. Tamanho: 10-25 µm



Entamoeba gingivalis Trofozoíta. O núcleo excêntrico contém um cariossoma pontilhado e cromatina periférica fina, distribuída de maneira uniforme. Muitos vacúolos endocíticos no citoplasma. Coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun. Tamanho: 10-20 µm

Enteromonas hominis Os cistos são semelhantes aos de *E. nana*, porém com 2 núcleos. Coloração tricrômica. Tamanho: 6-8 x 3-4 µm



E. hominis Trofozoíta e cisto (à esquerda). Em geral, os 4 flagelos dos trofozoítas são quase imperceptíveis. O cisto maduro costuma ter 4 núcleos, 2 em cada extremidade (à direita). Coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun. Tamanho do trofozoíta: 3-6 µm

Procedimentos de coloração de protozoários nas fezes

O uso de solução iodada de Lugol para corar preparações a fresco de amostras de fezes frescas ou preservadas com formol é descrito na Prancha 7. A seguir, são apresentados alguns procedimentos para a coloração permanente dos esfregaços preparados com material fecal fresco ou preservado.

Colorações permanentes para esfregaços fecais

Todas as soluções devem ser armazenadas em frascos limpos, identificados e com data.

Coloração tricrômica

Coloração muito boa para fezes frescas e não preservadas. O material preservado com SAF e formol não produz resultados satisfatórios.

Preparação

Acrescentar 10 mL de ácido acético glacial a 6 g de cromótopo 2R, 3 g de verde-claro FS e 7 g de ácido fosfotúngstico em um frasco limpo. Agitar para misturar e deixar em repouso por 30 minutos. Acrescentar 1.000 mL de água destilada e misturar bem; a cor deve ser um roxo intenso. Armazenar em frasco com tampa de vidro; o corante é estável e usado sem diluir.

Procedimento de coloração

Colocar as lâminas fixadas em álcool a 70% durante 2 minutos. Acrescentar a solução iodada de Lugol diluída ao etanol a 70% até obter uma cor de chá forte: colocar as lâminas na solução durante 5 minutos. Colocar as lâminas em duas trocas de álcool a 70%. Corar as lâminas em corante tricrômico não diluído durante 10 minutos. Retirar as lâminas, escorrer totalmente e colocá-las em álcool acidificado a 90% (preparado com 4,5 mL de ácido acético glacial e 1 L de etanol a 90%) por 2–3 segundos. Mergulhar as lâminas em álcool a 95% para enxaguar e, depois, desidratar com etanol a 100% e xileno ou com solução de carbol-xileno. Usando meio de montagem resinoso, colocar um lamínula sobre o esfregaço.

Coloração por hematoxilina férrica

Coloração muito boa para fezes frescas e não preservadas e para esfregaços fecais preservados com SAF (acetato de sódio, ácido acético e formol) e formol.

Preparação

Solução-estoque A: dissolver 1 g de cristais de hematoxilina em 100 mL de álcool a 95%; deixar a solução em repouso exposta à luz do dia por 1 semana e filtrar. Solução-estoque B: misturar 1 g de sulfato de amônio ferroso, 1 g de sulfato de amônio férrico e 1 mL de ácido clorídrico em 97 mL de água destilada. Preparar uma solução de trabalho com 25 mL de cada solução-estoque A e B; preparar pelo menos 3–4 horas antes da coloração. Preparar solução de ácido pícrico para descoloração, juntando 25 mL de solução aquosa saturada de ácido pícrico a 25 mL de água destilada.

Procedimento de coloração

Colocar as lâminas em álcool a 70% durante 5 minutos; em álcool a 50% durante 2 minutos; em água de torneira durante 5 minutos; em solução de trabalho de hematoxilina durante 10 minutos; em água destilada durante 1 minuto; em solução de ácido pícrico durante 1 minuto; em água corrente durante 10 minutos; em álcool a 70% com 1 gota de amônia durante 5 minutos; e em álcool a 95% durante 5 minutos. Desidratar com etanol a 100% e xileno ou com solução de carbol-xileno. Usando meio de montagem resinoso, colocar um lamínula sobre o esfregaço.

Técnica de Ziehl-Neelsen modificada (coloração acidorresistente)

Para detecção de infecções por *Cryptosporidium*, *Cyclospora* e outros coccídios.

Reagentes

Etanol a 50%: juntar 50 mL de etanol absoluto a 50 mL de água destilada.

Solução de **carbolfucsina A:** dissolver 4 g de fucsina básica em 20 mL de etanol a 95%. Solução B: dissolver 8 g de cristais de fenol em 100 mL de água destilada. Misturar as soluções A e B.

Ácido sulfúrico a 1%: acrescentar 1 mL de ácido sulfúrico concentrado a 99 mL de água destilada.

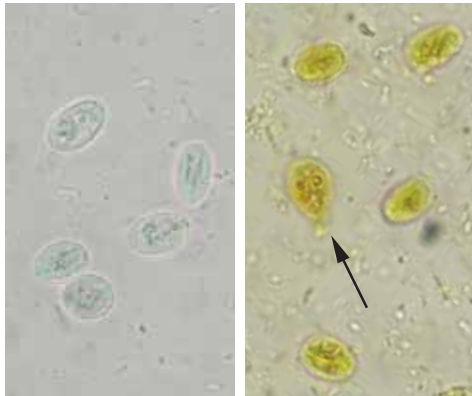
Azul de metileno alcalino: dissolver 0,3 g de azul de metileno em 30 mL de etanol a 95%. Acrescentar 100 mL de hidróxido de potássio diluído (0,01%).

Armazenar todas as soluções em temperatura ambiente. Elas se mantêm estáveis por 1 ano. Importante: indicar a data de validade no rótulo.

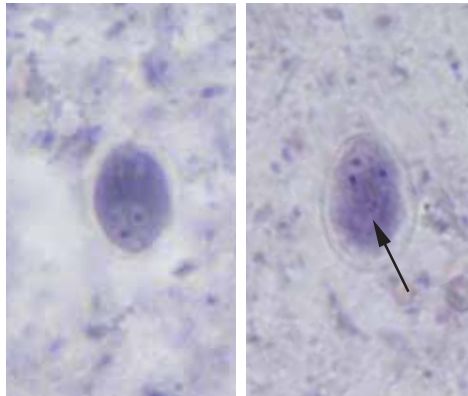
Procedimento

Fazer um esfregaço delgado de fezes em lâmina transparente e seca. Deixar secar. Fixar com metanol absoluto durante 30 segundos. Esperar secar. Corar a lâmina com carbolfucsina durante 5 minutos. Enxaguar por 3–5 segundos com etanol a 50%. Enxaguar em água de torneira. Descolorar com ácido sulfúrico a 1% até desaparecer o fluxo cor de rosa (1–2 minutos, dependendo da espessura da preparação). Enxaguar em água de torneira e escorrer. Corar com azul de metileno durante 1 minuto. Enxaguar, deixar secar e examinar usando óleo de imersão.

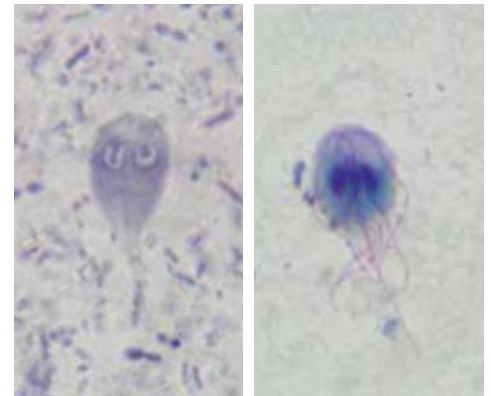
Nota: esta técnica não é recomendada para ovos de *Fasciola spp.* e larvas de *Strongyloides stercoralis*.



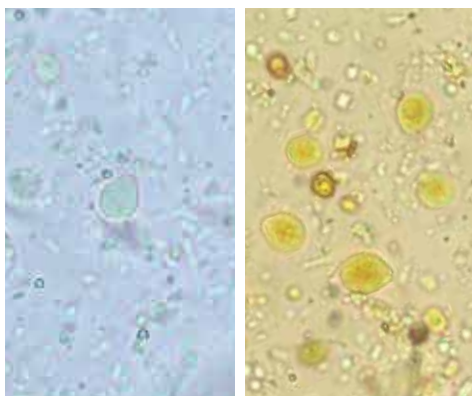
Giardia duodenalis À esquerda: cistos, não corados. À direita: cistos e trofozoíta (seta), Lugol. Tamanho: 8-12 x 7-10 µm



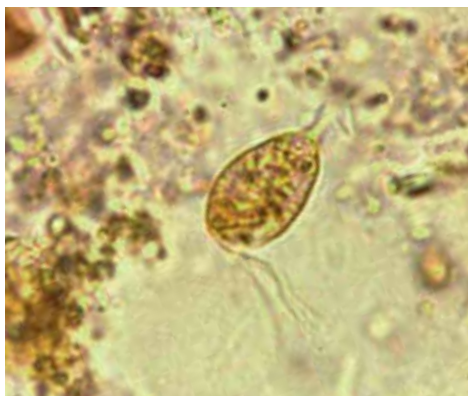
G. duodenalis Cistos. É possível observar 3 dos 4 núcleos presentes, os axonemas que dividem o cisto (à esquerda) e alguns fragmentos do disco (seta, à direita). Coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun



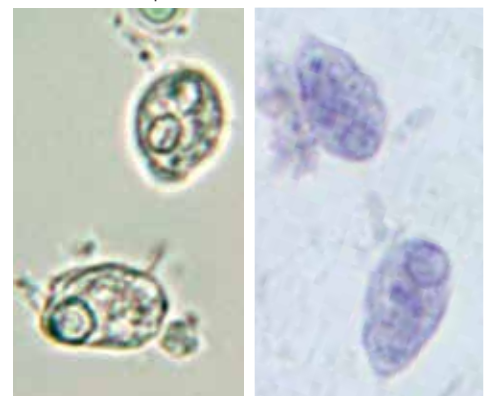
G. duodenalis Trofozoítas. À esquerda: coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun. À direita: Giemsa, que corou nitidamente os 4 pares de flagelos e 2 núcleos grandes. Tamanho: 10-20 µm



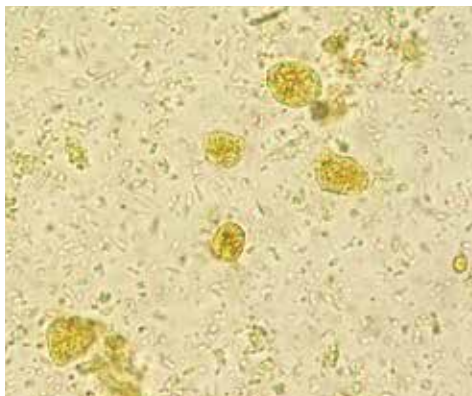
Chilomastix mesnili Cisto, tipicamente piriforme. À esquerda: não corado. À direita: cistos, Lugol. Núcleos e citóstoma mal delimitados. Tamanho: 7-9 µm



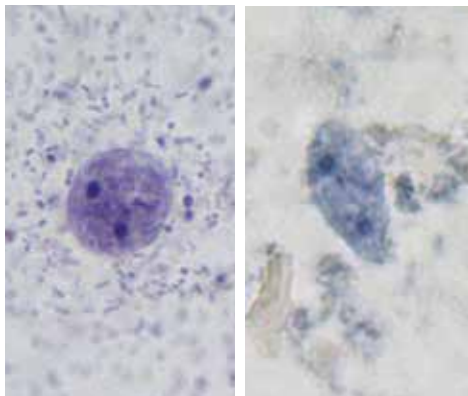
C. mesnili Trofozoíta com 3 flagelos livres, núcleo e citóstoma mal delimitado na extremidade anterior. Lugol. Tamanho: 12-20 x 5-6 µm



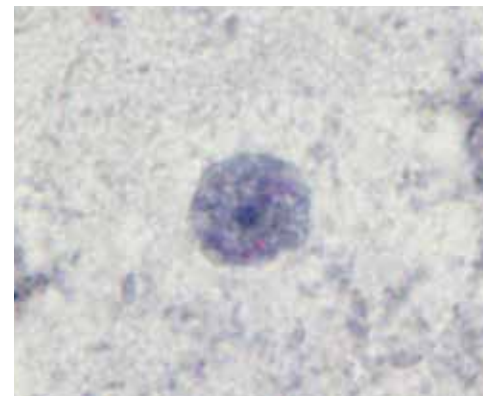
C. mesnili À esquerda, trofozoítas e cisto: não corados. À direita: trofozoítas, Coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun



Dientamoeba fragilis Trofozoítas, Lugol. Eles se apresentam como corpos refringentes polimorfos e, portanto, podem ser erroneamente diagnosticados como artefatos (principalmente leucócitos). Além disso, os trofozoítas devem ser diferenciados morfológicamente de outras pequenas amebas não patogênicas. Tamanho: 5-15 µm



D. fragilis Trofozoítas binucleados com morfologia diferente. Em *D. fragilis* é difícil identificar a forma cística. Coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun



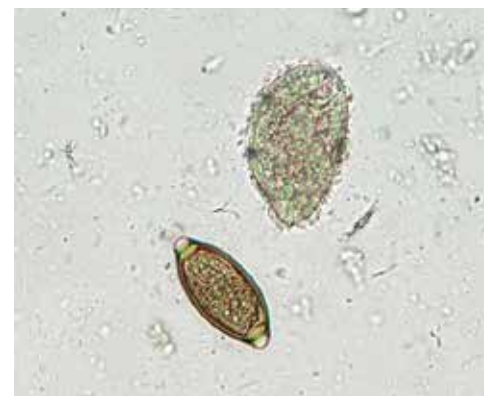
D. fragilis Trofozoíta mononucleado. Os cariossomas fragmentados são observados com facilidade. Coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun



Balantidium coli À esquerda: cisto em que se percebe com dificuldade o macronúcleo em formato de ferradura, não corado. À direita: focalização na superfície para mostrar elementos ciliares (seta). Tamanho: 50-70 µm

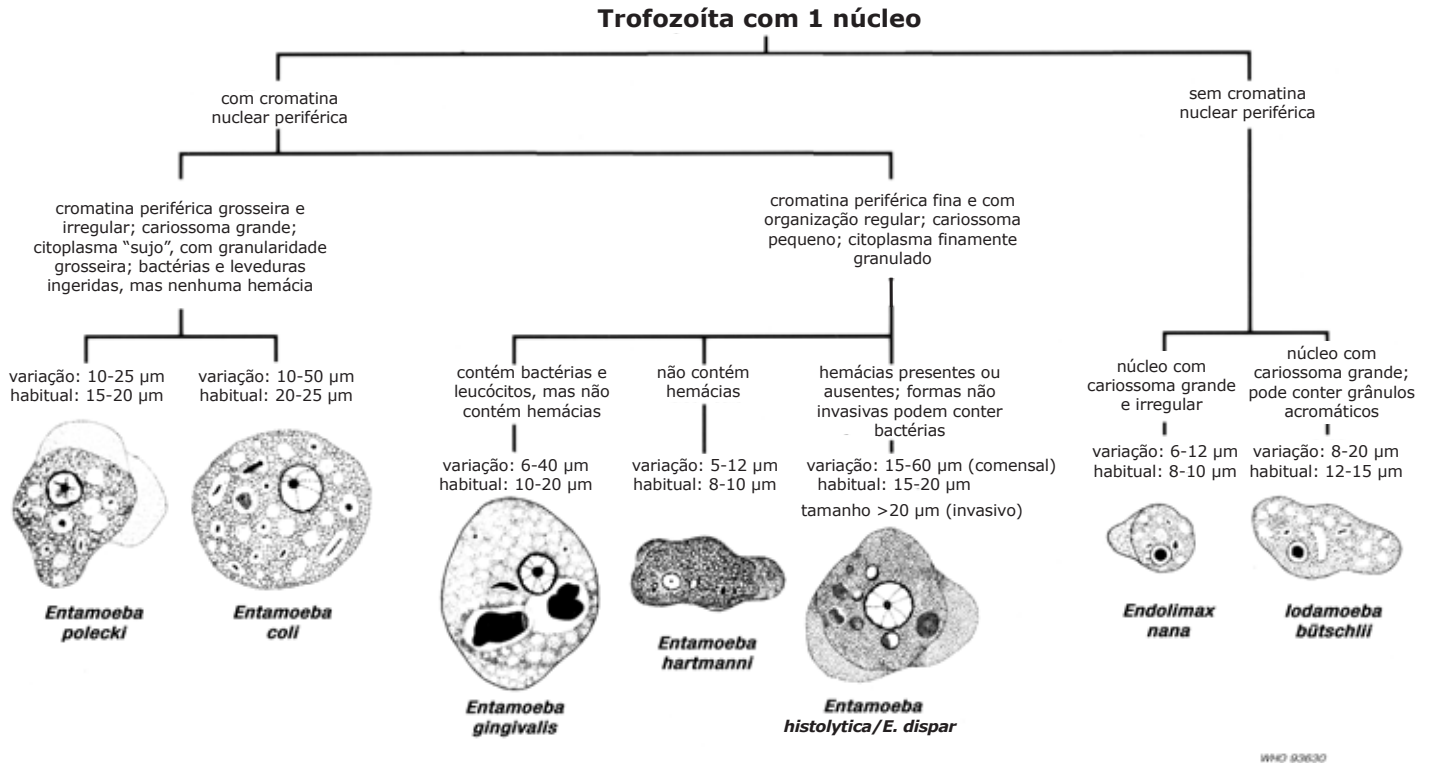


B. coli Trofozoítas; à esquerda: não corado; à direita: Lugol. Nos dois organismos, os cílios são visíveis na superfície, citóstoma na extremidade anterior (ponta de seta) e citopígio posterior (seta). Tamanho: 40-200 x 40-70 µm



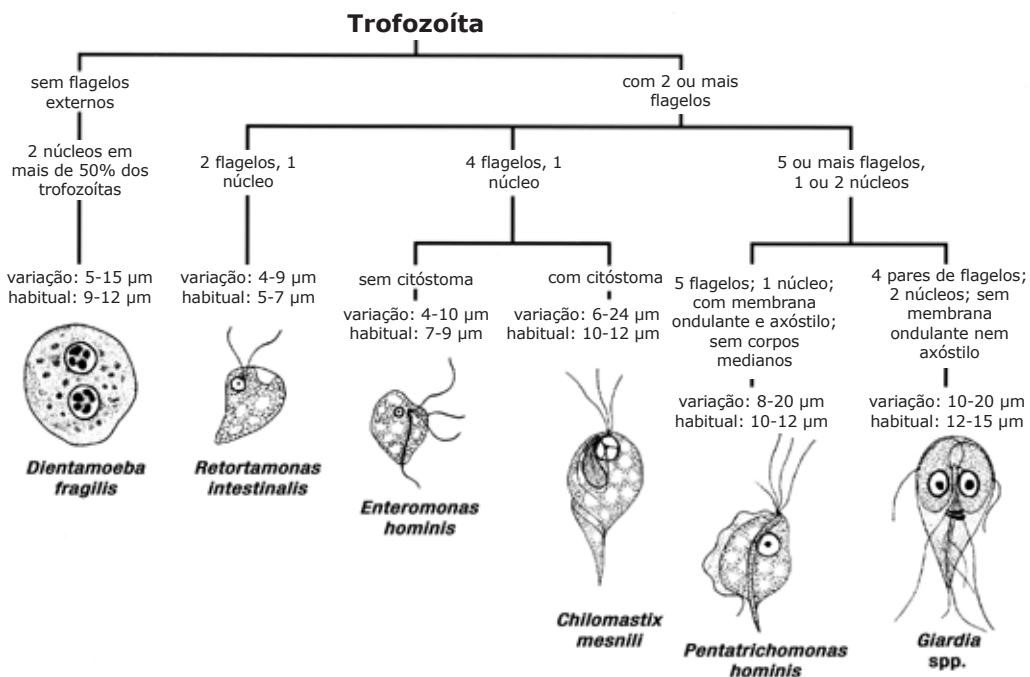
Trofozoíta de **B. coli** e ovo de **Trichuris trichiura**. Não corados

Chave para a identificação de trofozoítas amebóides em esfregaços corados



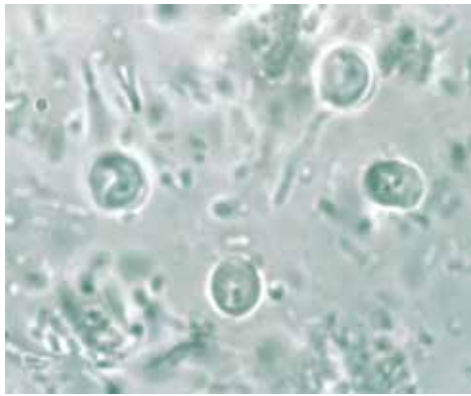
WHO 93630

Chave para a identificação de trofozoítas de flagelados intestinais em esfregaços corados

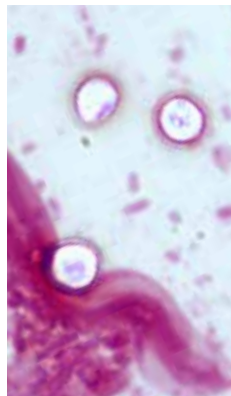


Nota: *Dientamoeba fragilis* e *Pentatrichomonas hominis* não têm estágio cístico

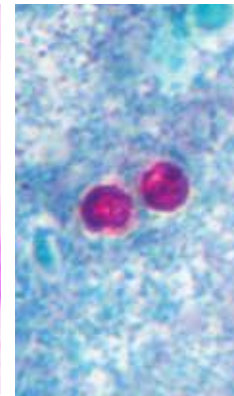
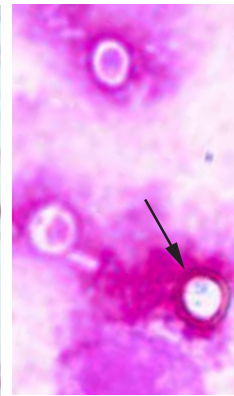
WHO 93629



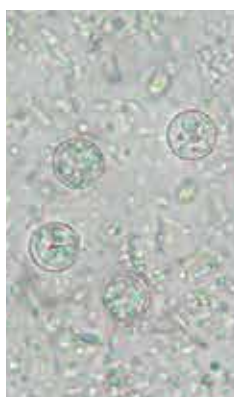
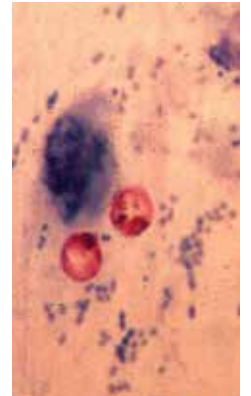
Cryptosporidium spp. Oocistos em esfregaço fixado com formol. O tamanho pequeno (4–6 µm) e um grânulo dentro dos oocistos são características diagnósticas úteis



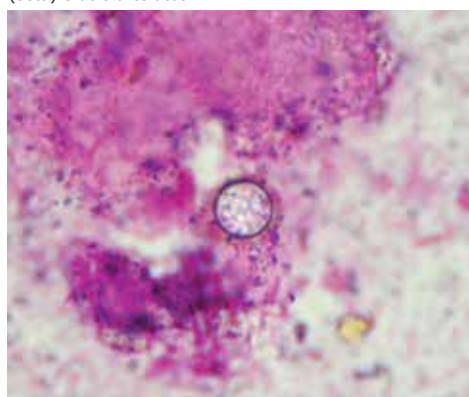
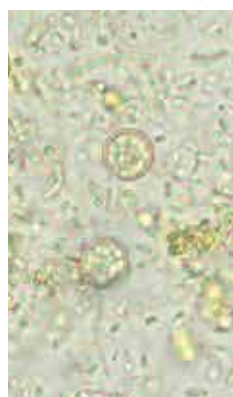
Cryptosporidium spp. Oocistos, técnica de coloração negativa de Heine. À esquerda: observam-se 3 oocistos não corados, altamente refringentes, com estruturas internas levemente visíveis. À direita: um oocisto visível (seta) e dois artefatos



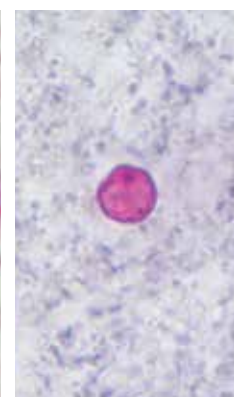
Cryptosporidium spp. Oocistos. À esquerda: dois oocistos nas fezes, coloração de Ziehl-Neelsen. À direita: dois oocistos isolados no escarro, coloração de Ziehl-Neelsen



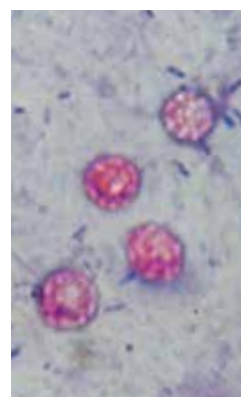
Cyclospora cayatanensis Oocistos não esporulados. Eles medem 8–10 µm, são redondos, refringentes em esfregaço frescos, com parede do oocisto bem delimitada e conteúdo granulado regular. À esquerda: não corado; à direita: Lugol



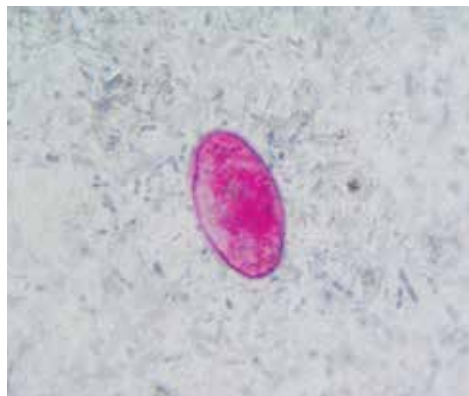
C. cayatanensis Oocisto não esporulado, técnica de coloração negativa de Heine



C. cayatanensis Oocistos não esporulados. À esquerda: coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun. À direita: coloração de Ziehl-Neelsen



Cystoisospora belli Oocistos; à esquerda: não esporulado; à direita: esporulado com 4 esporozoítas em cada um dos dois esporocistos. Não corados. Tamanho: 20–33 x 10–19 µm



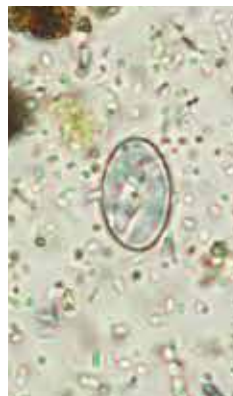
C. belli Oocisto não esporulado. Coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun



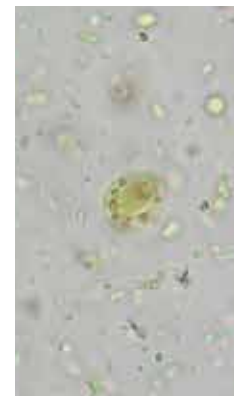
C. belli À esquerda: oocisto, junto com oocisto de Cryptosporidium, coloração tricrômica. Às vezes, pode haver infecção mista, como esta observada em paciente com aids. À direita: oocistos, coloração de Ziehl-Neelsen modificada



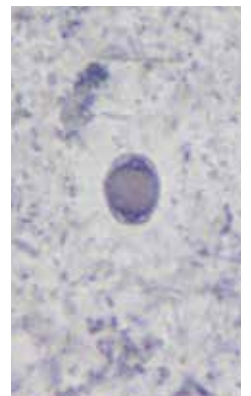
Sarcocystis spp. À esquerda: oocisto com 2 esporocistos, Lugol. À direita: esporocisto, morfologia encontrada com maior frequência. Não corados. Tamanho dos oocistos: 15–20 µm. Tamanho dos esporocistos: 10 µm



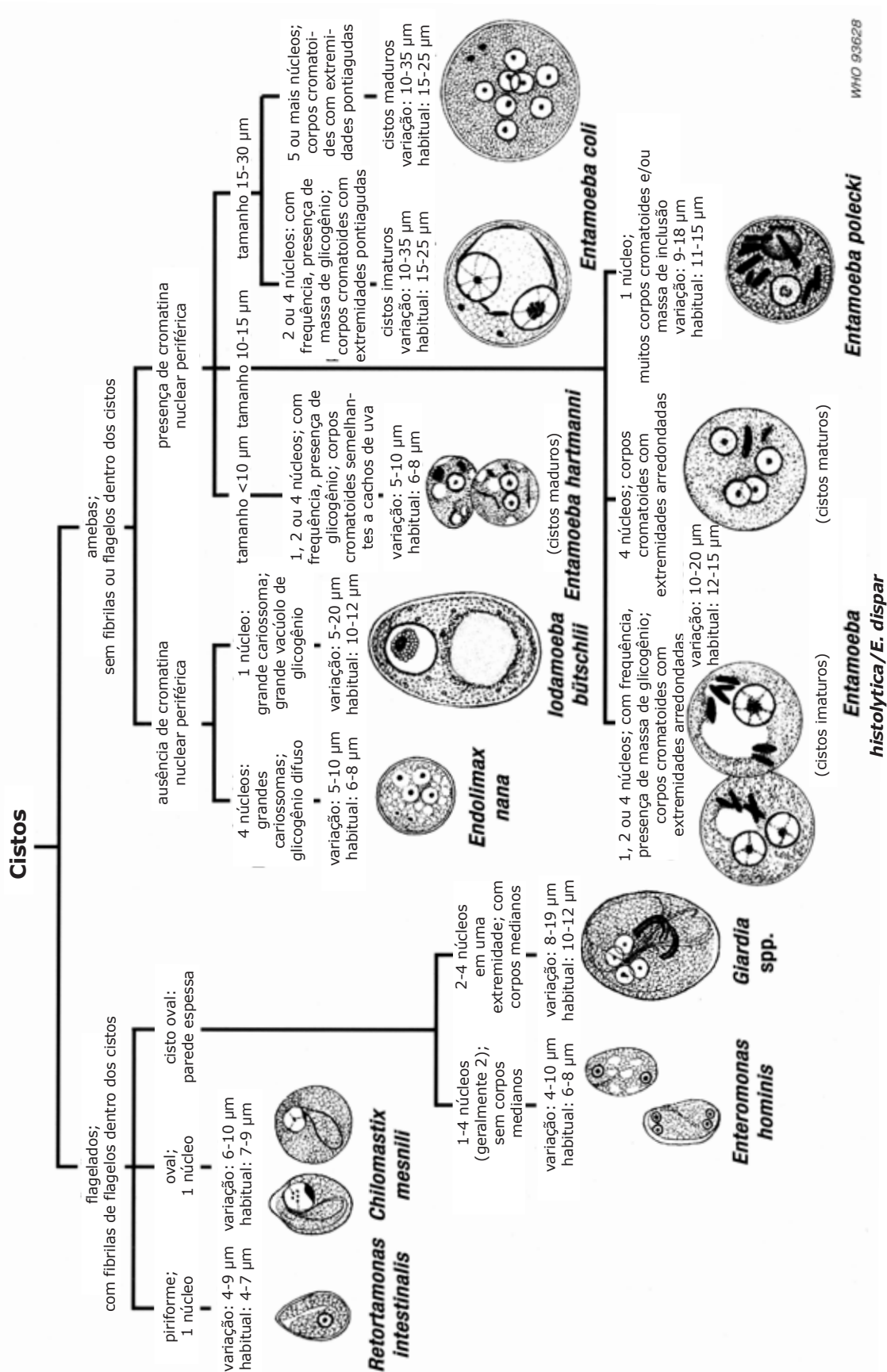
Sarcocystis spp. Oocistos esporulados podem se romper facilmente, liberando os esporocistos, como este. Técnica de coloração negativa de Heine



Blastocystis sp. Duas formas vacuolares caracterizadas por um grande corpo central e um anel de citoplasma que contém os núcleos e outras organelas celulares. À esquerda: Lugol; à direita: coloração pela hematoxilina férrica de Kinyoun. Seu poder patogênico ainda não está claro. Tamanho: 5–30 µm



Chave para a identificação de cistos de amebas e flagelados intestinais em esfregaços corados



WHO 93628

Entamoeba polecki

Entamoeba histolytica/E. dispar

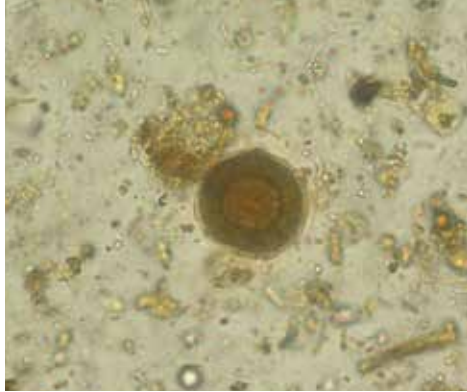
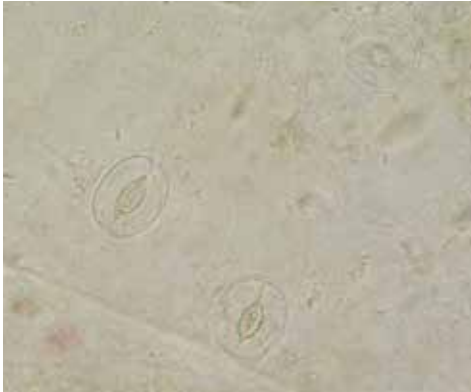
Giardia spp.

Enteromonas hominis

Chilomastix mesnili

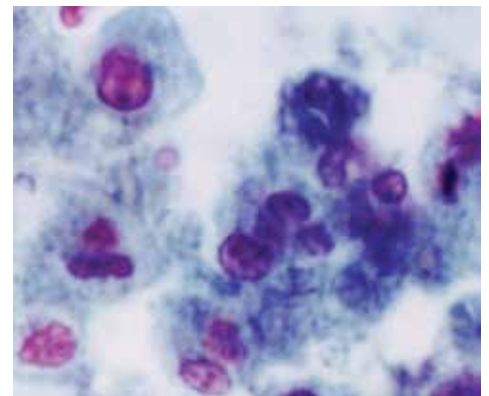
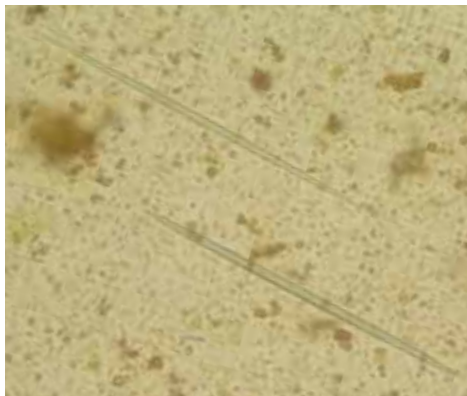
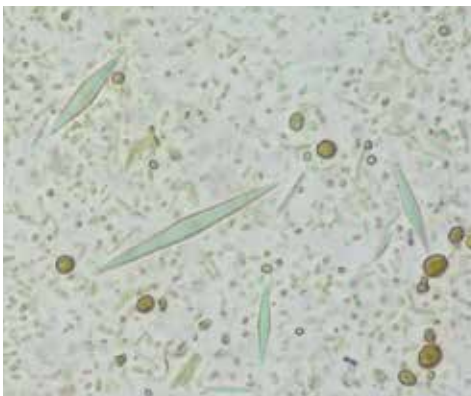
Retortamonas intestinalis

WHO 93628



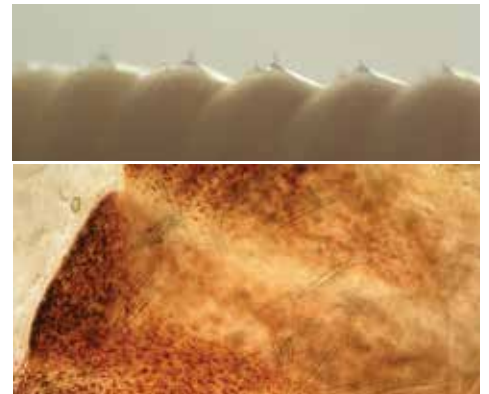
Material vegetal: é encontrado com frequência nas fezes e, às vezes, pode ser muito semelhante a elementos parasitários. Pode simular, por exemplo, ovos de *Hymenolepis nana* (à esquerda, observe a ausência dos ganchos internos característicos) ou ovos de *Taenia* (à direita, observe a ausência de ganchos internos)

Pelos vegetais: podem ser confundidos com larvas de parasitos. Observe sua aparência geralmente reta e eixo central não estruturado. Com frequência, uma das extremidades é desfiada



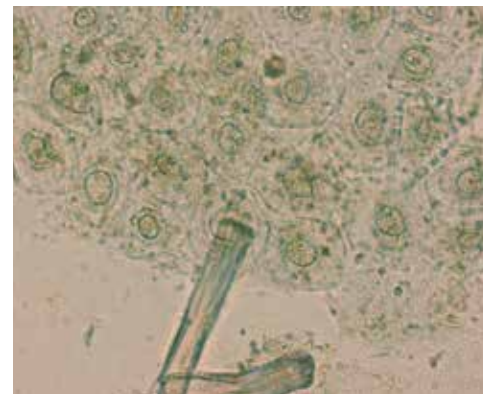
Os **cristais de Charcot-Leyden:** têm aparência característica de "agulhas de bússola" (à esquerda). São um produto da degradação de leucócitos eosinofílicos e sua presença deve ser descrita. Não devem ser confundidos com cristais que podem ser produzidos nas fezes por alguns tipos de frutas (à direita)

Leucócitos polimorfonucleares: são observados agrupados no esfregaço corado pelo método tricrômico. Embora possam ser confundidos com amebas, o tamanho grande dos núcleos em relação ao citoplasma da célula e sua estrutura indicam que são células inflamatórias



Os **ascósporos:** são esporos de Ascomycetes, tipo de fungo que inclui alguns comestíveis (p. ex., cogumelos morel). Em razão de seu tamanho e do formato oval, podem ser confundidos com *Giardia duodenalis*. Observe a ausência de estruturas internas características

Oligoquetas são, às vezes, confundidos com *Ascaris* adultos (ou jovens). Os oligoquetas têm cerdas pequenas, que podem ser visualizadas com lupa binocular (em cima) ou pelo exame de um fragmento de sua pele ao microscópio (embaixo)



Ovos de Acarina: podem se assemelhar aos ovos de ancilostomídeos. Entretanto, sempre medem mais de 100 µm. Em geral, são completamente preenchidos. Às vezes, é possível distinguir estruturas características (p. ex., pernas) em seu interior

Heterodera spp. ou **Meloidogyne spp.:** são nematoides parasitas de vegetais. Seus ovos podem ser confundidos com ovos de ancilostomídeos, mas geralmente são maiores e reniformes. Às vezes, há uma larva em seu interior

Células epiteliais Lugol

Outras técnicas parasitológicas

Sedimentação de urina para diagnóstico de esquistossomose

Esta técnica é usada para detectar ovos de *S. haematobium*. Às vezes, também é possível detectar trofozoítas de *Trichomonas vaginalis* e microfilárias de *Onchocerca volvulus* ou *Wuchereria bancrofti*. Existem no mercado tiras para avaliar micro-hematúria e kits para concentração e filtração dos ovos.

Nota: para o diagnóstico de esquistossomose, a urina da última parte da micção, coletada de preferência entre 10h e 14h, contém a maior concentração de ovos e deve ser usada para concentração. As amostras devem ser examinadas o mais cedo possível após a coleta, pois os ovos podem eclodir e dificultar a identificação ou o reconhecimento (a manutenção da urina em local escuro até o exame pode retardar a eclosão). Além disso, podem se formar cristais durante o armazenamento da urina, tornando mais difícil o diagnóstico correto.

Procedimento

1. Misturar bem a amostra de urina e com uma seringa encher dois tubos cônicos de 15 mL.
2. Centrifugar os tubos a 2.000 g durante 2 minutos. Outra opção é aguardar a sedimentação das amostras durante 1 hora.
3. Descartar o sobrenadante pela inversão dos tubos.
4. Colocar algumas gotas de sedimento sobre uma lâmina e cobrir com lamínula.
5. Examinar ao microscópio usando a objetiva de 10x.

Filtração de urina

Embora considerado o “padrão-ouro” para o diagnóstico da esquistossomose urinária, o kit para filtração de urina requer técnicos de laboratório capacitados e equipamento adequado.

Procedimento

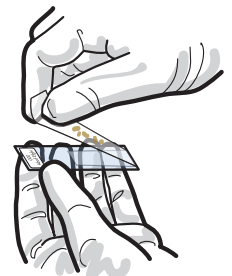
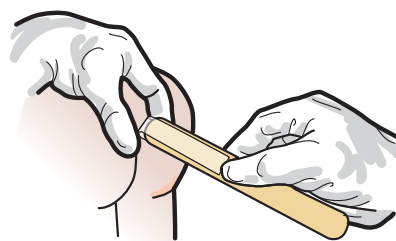
1. Desatarraxar o porta-filtro e, com cuidado, inserir nele um filtro, verificando se está corretamente posicionado antes de montar a unidade filtrante novamente.
2. Agitar e misturar a amostra de urina antes de retirar uma alíquota de 10 mL com a seringa, depois acoplar à unidade filtrante.
3. Mantendo a seringa e o filtro em posição vertical, pressionar o êmbolo para baixo para que toda a urina atravesse o filtro e seja despejada em um frasco.
4. Com cuidado, desconectar a seringa da unidade filtrante. Aspirar ar com a seringa, reacoplar a seringa à unidade filtrante e expelir o ar. Isso é importante, pois elimina qualquer excesso de urina e assegura que os ovos estejam firmemente aderidos ao filtro.
5. Desatarraxar a unidade e tirar o filtro, colocando-o (com a parte superior voltada para cima) sobre uma lâmina para microscópio.
6. Acrescentar uma gota de solução iodada de Lugol e esperar 15 segundos para que o corante penetre nos ovos, o que os torna mais visíveis.
7. Examinar de imediato todo o filtro ao microscópio com pequeno aumento (objetiva de 4x). Os ovos de esquistossomo podem ser vistos com nitidez porque se coram de laranja. As cargas de infecção são registradas como número de ovos por 10 mL de urina.

Teste da fita gomada

Esta técnica, também conhecida como “teste da fita adesiva”, é o método preferido para detectar ovos de *Enterobius vermicularis* (oxiúros) e, às vezes, fêmeas adultas. O teste deve ser realizado de manhã, antes que o paciente tome banho ou vá ao banheiro.

Procedimento

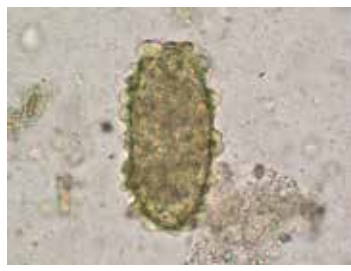
1. Pressionar com firmeza a fita adesiva, dobrada em alça (com a superfície adesiva para fora) sobre um abaixador de língua de madeira, contra as pregas perianais direita e esquerda. Quaisquer oxiúros ou ovos que estejam na pele aderirão à fita.
2. Pressionar a face adesiva da fita sobre uma lâmina e usar o microscópio para pesquisar oxiúros ou ovos de oxiúros.



Prancha 12 Visão geral dos helmintos



Ascaris lumbricoides Prancha 1



Ascaris lumbricoides Prancha 1



Trichuris trichiura Prancha 1



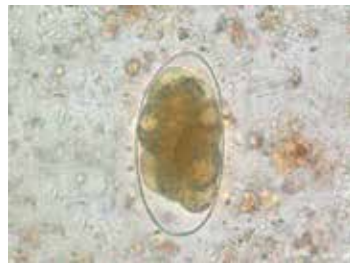
Capillaria philippinensis Prancha 1



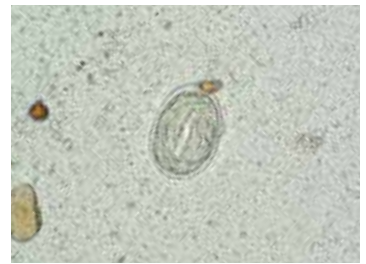
Capillaria aerophila Prancha 1



Ancylostomidae Prancha 2



Trichostrongylus spp. Prancha 2



Strongyloides stercoralis Prancha 2



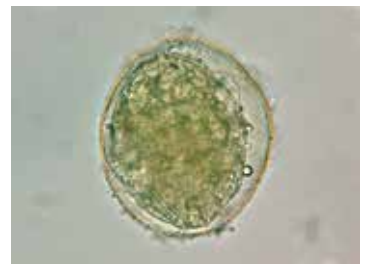
Enterobius vermicularis Prancha 2



Schistosoma mansoni Prancha 3



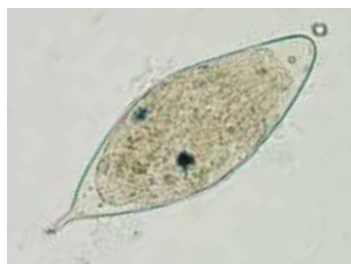
Schistosoma mekongi Prancha 3



Schistosoma japonicum Prancha 3



Schistosoma intercalatum Prancha 3



Schistosoma haematobium Prancha 3



Ovos semelhantes aos de *Clonorchis* Prancha 4



Paragonimus spp. Prancha 4



Dicrocoelium dendriticum Prancha 4



Fasciola hepatica Prancha 4



Dipyllobothrium latum Prancha 5



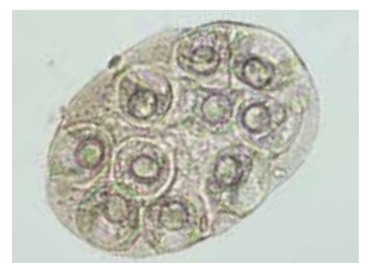
Taenia spp. Prancha 5



Hymenolepis nana Prancha 5



Hymenolepis diminuta Prancha 5



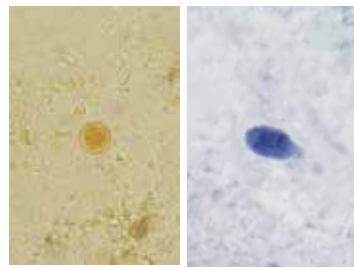
Dipylidium caninum Prancha 5

Prancha 12

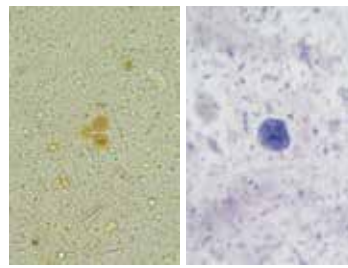
Visão geral dos protozoários



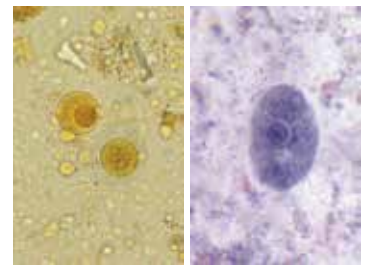
Ascaris lumbricoides Prancha 1



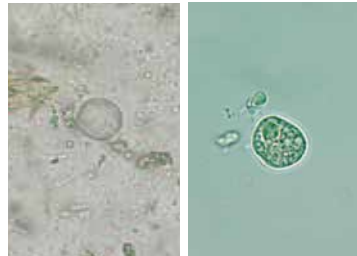
Entamoeba histolytica/E. dispar
Prancha 7 À esquerda: cisto; à direita: trofozoíta



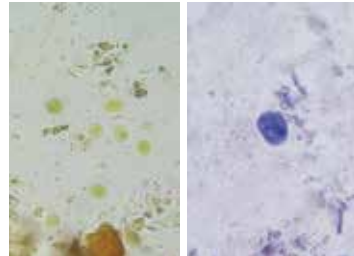
Entamoeba hartmanni Prancha 7
À esquerda: cisto; à direita: trofozoíta



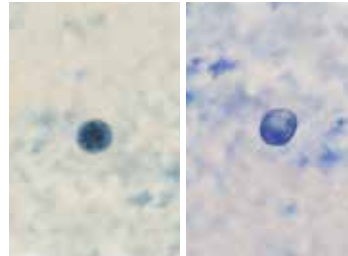
Entamoeba coli Prancha 7
À esquerda: cisto; à direita: trofozoíta



Iodamoeba bütschlii Prancha 8
À esquerda: cisto; à direita: trofozoíta



Endolimax nana Prancha 8
À esquerda: cisto; à direita: trofozoíta



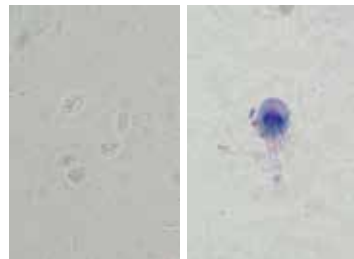
Entamoeba polecki Prancha 8
À esquerda: cisto; à direita: trofozoíta



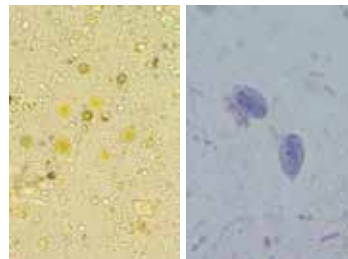
Entamoeba gingivalis Prancha 8
Trofozoíta



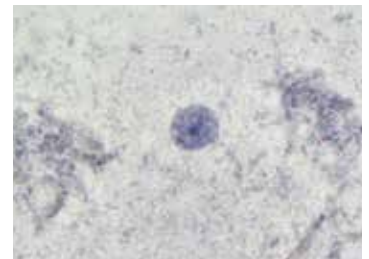
Enteromonas hominis Prancha 8



Giardia duodenalis Prancha 9
À esquerda: cisto; à direita: trofozoíta



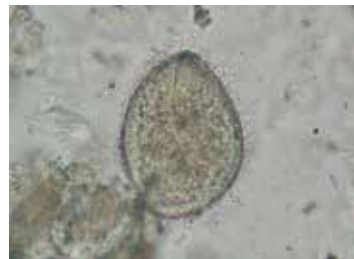
Chilomastix mesnili Prancha 9
À esquerda: cisto; à direita: trofozoíta



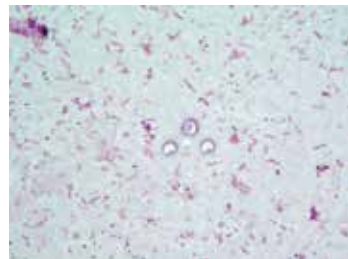
Dientamoeba fragilis Prancha 9
Trofozoíta



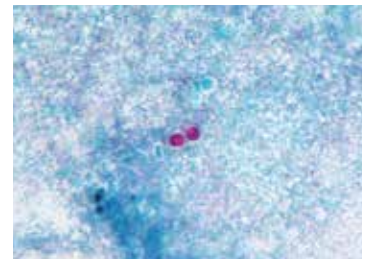
Balantidium coli Prancha 9 À esquerda: cisto; à direita: trofozoíta



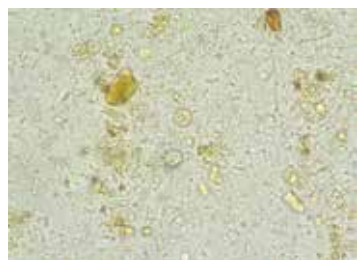
Cyclospora cayetanensis Prancha 10
Oocistos não esporulados



Cryptosporidium spp. Prancha 10



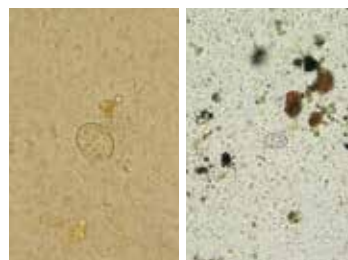
Cryptosporidium spp. Prancha 10



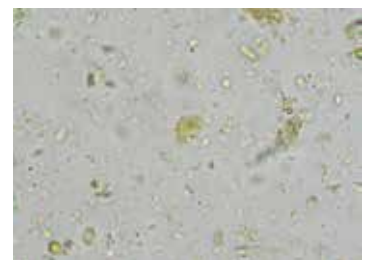
Cyclospora cayetanensis Prancha 10
Oocistos não esporulados



Cystoisospora belli Prancha 10
Oocisto não esporulado



Sarcocystis spp. Prancha 10
À esquerda: oocisto; à direita: esporocisto



Blastocystis sp. Prancha 10

Pranchas para o diagnóstico

de parasitos intestinais

segunda edição

Estas *Pranchas para o diagnóstico de parasitos intestinais* destinam-se a servir tanto como orientação para profissionais de laboratório e de campo em países endêmicos quanto como material de ensino para estudantes e estagiários. Contêm orientações sobre a escolha da preparação para os diferentes métodos copromicroscópicos e a principal técnica de coloração para o diagnóstico de parasitos intestinais (nematóides, trematódeos, cestódeos e protozoários). As fotomicrografias mostram a aparência e as características diagnósticas dos diversos parasitos nas diferentes preparações.

As pranchas foram produzidas em formato plastificado impermeável, resistente e fácil de usar na bancada. São recomendadas para todos os profissionais de saúde que atuam na rotina de diagnóstico de parasitoses intestinais.



ISBN 978-92-75-72205-3

