

AULA PRÁTICA
Profa Alessandra Barone
Prof. Archangelo P. Fernandes
WWW.profbio.com.br

TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO

EXAME DE FEZES

EXAME MACROSCÓPICO

Procedimentos

1- Observar a consistência da amostra.

Fezes moles ou líquidas sugerem a possível presença de trofozoítos de protozoários intestinais. Cistos de protozoários são encontrados com mais frequência em fezes formadas. Ovos e larvas de helmintos podem ser encontrados tanto em fezes líquidas quanto em fezes formadas.

2- Examinar a superfície da amostra para observar a presença de proglotes de tênias, ancilostomídeos ou oxiúros adultos, por exemplo.

3- Examinar a amostra fecal com auxílio de um palito (sorvete) para verificar a presença de outros helmintos adultos.

4- Examinar as fezes quanto à presença de sangue e/ou muco.

a) sangue fresco (vermelho vivo) indica hemorragia aguda no trato intestinal.

b) muco sanguinolento sugere ulcerações e uma porção desse material deve, de preferência, ser examinada, ao microscópio, para a procura de trofozoitos.

Os vermes adultos, quando encontrados, devem ser imediatamente examinados e identificados.

As tênias são identificadas especificamente pelo exame das proglotes grávidas. As proglotes devem ser fixadas em formol a 10% e depois clarificadas por imersão em glicerina ou solução de lactofenol (1:1).

EXAME MICROSCÓPICO

Permite a visualização de trofozoitos, cistos e oocistos de protozoários e de ovos e larvas de helmintos.

É recomendável, como rotina, o emprego de 03 procedimentos distintos

- a) exame direto a fresco, para observação dos movimentos do trofozoito,
- b) técnicas de concentração de parasitas
- c) um esfregaço de fezes com coloração permanente

O exame pode ser **quantitativo** ou **qualitativo**. Os métodos quantitativos são aqueles nos quais se faz contagem de ovos para avaliação da carga parasitária. O mais conhecido é o de Stoll, mas, o mais empregado atualmente é o de Kato-Katz.

Os métodos qualitativos são os mais utilizados para a demonstração da presença das formas parasitárias. Frequentemente o número das formas parasitárias é pequeno, assim é necessário recorrer a processos de enriquecimento dessas formas para concentrá-las.

Os principais métodos de enriquecimento ou de concentração utilizados são:

Sedimentação espontânea: método de Hoffmann, Pons e Janer ou método de Lutz. Este método permite o encontro de ovos e larvas de helmintos e cistos de protozoários;

Sedimentação por centrifugação: Método de Blagg, conhecido por MIFC; Método de Ritchie, e o Coprotest. Usados para a pesquisa de cistos de protozoários e de ovos e larvas de helmintos.

Flutuação: Método de Willis. Indicado para pesquisa de ovos leves (ancilostomídeos).

Centrífugo-flutuação: Método de Faust. Utilizado para pesquisa de cistos e oocistos de protozoários e de ovos leves.

Concentração de larvas de helmintos: Método de Baermann-Moraes e o método de Rugai usados para pesquisa de larvas de *Strongyloides stercoralis*.

As fezes enviadas ao laboratório clínico devem ser submetidas a um desses métodos citados. Como não existe um método capaz de diagnosticar, ao mesmo tempo, todas as formas parasitárias o que se faz de rotina é o emprego de um método geral como o de Lutz ou de Hoffmann, Pons e Janer (de fácil execução e pouco dispendioso), um específico para cistos de protozoários e um para a pesquisa de larvas de helmintos.

Exame direto a fresco

- 1- Colocar duas a três gotas de salina a 0,85% em uma lâmina de vidro.
- 2- Tocar com a ponta de um palito em vários pontos das fezes, transferindo uma pequena porção para a lâmina de microscopia.
- 3- Espalhar as fezes, fazendo um esfregaço e examinar ao microscópio. A espessura do esfregaço não deve impedir a passagem de luz.
- 4- Este método é indicado principalmente para a pesquisa de trofozoitos de protozoários em fezes diarréicas recém emitidas; para a identificação de cistos de protozoários e larvas de helmintos cora-se a preparação com Lugol. O uso de lamínula é facultativo.

Solução de Lugol

Iodo	2g
Iodeto de potássio	4g
Água destilada	100ml

Método de Lutz ou de Hoffmann, Pons e Janer (sedimentação espontânea).

- 1- Colocar aproximadamente 2g de fezes em um frasco de Borrel ou em um copo plástico descartável, com cerca de 5 ml de água e dissolver bem com auxílio de um palito de sorvete descartável.
- 2- Acrescentar mais 20 ml de água
- 3- Coar a suspensão (para isto, usa-se gaze cirúrgica umedecida, dobrada em quatro, e colocada em um coador de plástico pequeno) num cálice cônico de 200 ml de capacidade. Os detritos retidos na gaze são lavados com mais 20 ml de água.
- 4- Completar o volume do cálice com água.

- 5- Deixar essa suspensão em repouso durante duas a 24 horas.
- 6- Desprezar o líquido sobrenadante cuidadosamente, homogeneizar o sedimento e coletar uma porção do mesmo.
- 7- Colocar parte do sedimento numa lâmina, corar com Lugol e cobrir com lamínula (facultativo). Examinar no mínimo duas lâminas de cada amostra.

Método de Faust (centrífugo-flutuação em sulfato de zinco)

- 1- Diluir 10g de fezes em 20 ml de água
 - 2- Homogeneizar bem.
 - 3- Filtrar em gaze dobrada em quatro, num copo plástico, e transferir para um tubo de Wasserman.
 - 4- Centrifugar por um minuto a 2.500 rpm.
 - 5- Desprezar o líquido sobrenadante e ressuspender o sedimento em água
 - 6- Repetir as operações 4 e 5 até que o sobrenadante fique claro.
 - 7- Desprezar o sobrenadante claro e ressuspender o sedimento com uma solução de sulfato de zinco a 33%, densidade de 1,18 g/ml.
 - 8- Centrifugar novamente por um minuto a 2.500 rpm.
 - 9- Os cistos e os ovos leves presentes estarão na película superficial; a mesma é recolhida com alça de platina, colocada numa lâmina junto com uma gota de Lugol e coberta com lamínula.
- O material deve ser examinado imediatamente. O sulfato de zinco pode deformar os cistos e os ovos.

Método de Willis

- 1- Colocar 10g de fezes num frasco de Borrel ou no próprio recipiente onde estão as fezes
- 2- Homogeneiza-las com um pouco de solução saturada de sal (NaCl) ou de açúcar
- 3- Completar o volume até a borda do frasco.
- 4- Colocar na boca do frasco uma lâmina, que deverá estar em contato com o líquido.
- 5- Deixar em repouso por 5 minutos.
- 6- Findo esse tempo, retirar rapidamente a lâmina, deixando a parte molhada voltada para cima.
- 7- Cobrir com lamínula, corar com Lugol e examinar com objetiva 10x.

Método de Rugai

- 1- Retirar a tampa do recipiente que acondiciona as fezes e envolvê-lo em ter gazes, fazendo uma pequena "trouxa".
- 2- Colocar o material assim preparado, com a abertura voltada para baixo, num cálice de sedimentação, contendo água aquecida (45°C), em quantidade suficiente para entrar em contato com as fezes.
- 3- Deixar em repouso por uma hora
- 4- Coletar o sedimento no fundo do cálice, com ajuda de uma pipeta.
- 5- Corar as larvas com Lugol e observá-las com o maior aumento para identificá-las.

Fezes diarréicas (as larvas morrem muito rapidamente) ou coletadas em conservador não se prestam para esses métodos.

Referências bibliográficas

- 1. DE CARLI, G. A. Parasitologia clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 2007.**
- 2. NEVES, D. P. Parasitologia Humana. 9º e 10º ed - São Paulo: Atheneu, 1998 e 2000**
- 3. REY, L. Bases da Parasitologia médica. Rio de Janeiro -2º ed. -: Guanabara-Koogan, -1992.**
- 4. CHIEFFI, P. P. Parasitoses intestinais: diagnóstico e tratamento. São Paulo: Lemos Editorial, 2001.**
- 5. LEVENTHAL, R.; CHANDLER, R. Parasitologia Médica. São Paulo: Editora Premier, 1997.**
- 6. TIERNEY, L.M.; MCPHEE, S. J. & PAPADAKIS, M. A. Diagnóstico & Tratamento. São Paulo: Atheneu Editora São Paulo Ltda, 2004.**
- 7. GOLDMAN, L & BENNETT, J.C. Cecil Tratado de Medicina, 21ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001**