

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
INSTITUTO BIOMÉDICO
BIOMEDICINA

JULIANA DA SILVA MATOS

**COMPARAÇÃO ENTRE USO DE AMOSTRAS INDIVIDUALIZADAS E DE *POOL*
DE AMOSTRAS NO DIAGNÓSTICO DE PARASITOS INTESTINAIS EM FEZES**

NITERÓI,

2016

JULIANA DA SILVA MATOS

COMPARAÇÃO ENTRE USO DE AMOSTRAS INDIVIDUALIZADAS E DE *POOL* DE
AMOSTRAS NO DIAGNÓSTICO DE PARASITOS INTESTINAIS EM FEZES

Trabalho de conclusão de curso de
Graduação em Biomedicina apresentado a
Universidade Federal Fluminense, como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel.

Área de concentração: Análises Clínicas.

Orientadora:

Prof^aDr^a Claudia Maria Antunes Uchôa Souto Maior

Niterói, RJ

2016

M433 Matos, Juliana da Silva

Comparação entre uso de amostras individualizadas e de pool de amostras no diagnóstico de parasitos intestinais em fezes / Juliana da Silva Matos.- Niterói: [s.n.], 2016.

43 f. : il.

Orientador(a): Cláudia Maria Antunes Uchôa Souto Maior.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação em Biomedicina) - Universidade Federal Fluminense, 2016.

1. Parasitologia. 2. Fezes. 3. Técnica de laboratório. 4. Análise clínica. I. Título.

CDD 616.96

JULIANA DA SILVA MATOS

COMPARAÇÃO ENTRE USO DE AMOSTRAS INDIVIDUALIZADAS E DE *POOL* DE
AMOSTRAS NO DIAGNÓSTICO DE PARASITOS INTESTINAIS EM FEZES

Trabalho de conclusão de curso de
Graduação em Biomedicina apresentado a
Universidade Federal Fluminense, como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel.

Área de concentração: Análises Clínicas.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Claudia Maria Antunes Uchôa Souto Maior – UFF
Presidente – Orientadora

Prof. Fernando Campos Sodré – UFF
Titular

Prof^a. Alynne da Silva Barbosa – UFF
Titular

Prof. Otílio Machado Pereira Bastos – UFF
Suplente

AGRADECIMENTOS

À querida professora Claudia Uchôa, que além de orientadora, foi amiga, mãe parasitológica, mentora, psicóloga, psiquiatra, botânica... e muitas outras características que a fazem ser a pessoa mais incrível que existe nessa UFF toda. Muito obrigada por todo o ensinamento, confiança e amizade.

Agradeço aos meus pais e irmão, pelo amor, paciência e compreensão constantes, em especial a minha mãe Isa, que sempre lembrava que eu devia fazer refeições quando, por muitas vezes, eu as esquecia. Amo vocês demais!

À Universidade Federal Fluminense, minha segunda casa, onde passei mais tempo do que na minha casa de verdade durante esses quatro anos.

Agradeço ao Gabriel Martins pelo brilhante auxílio com as análises estatísticas.

A Secretaria de Educação de Niteroi que possibilitou o desenvolvimento desse estudo.

Aos cocolindos mais maravilhosos que existem, sempre tornando o que seria trabalho mais prazeroso e divertido. Obrigada por compartilharem o amor pela parasitologia, os *milk-shakes*, os odores e as pérolas, afinal de contas, a colheita sempre será feita com alça de plantio.

Aos meus amigos mais queridos. O tanto que são importantes não cabe em algumas linhas. Obrigada por me permitir fazer parte da vida de vocês, por compartilharem das loucuras, das viagens, dos pensamentos, das risadas e miados, dos abraços, das incertezas e das dificuldades. Obrigada por serem os melhores amigos que eu poderia querer e ter.

Agradeço pelos abraços, beijos, carinho, puxões de orelha, ajuda, cuidado, risadas, conversas, pelas discussões sem sentido que no final, nunca possuíam conclusão alguma. Raphael, meu amor é todo seu!

Gratidão a todos que direta e indiretamente fizeram parte dessa monografia. Muito obrigada!

RESUMO

O diagnóstico das parasitoses intestinais na rotina do setor de parasitologia de laboratórios de análises clínicas é, principalmente, determinado por meio de técnicas coproparasitológicas seguida pela microscopia, pois estas apresentam baixo custo e fácil processamento. Nesses procedimentos, com objetivo de aumentar a eficácia do diagnóstico é proposta a utilização de múltiplas amostras fecais oriundas de diferentes dias, uma vez que a liberação e distribuição de formas evolutivas de parasitos intestinais nas fezes ocorrem de forma heterogênea. A análise de amostras de diferentes dias de forma individual aumenta o trabalho na rotina, sobrecarregando o setor, o tempo de processamento e os custos. Como alternativa, em algumas rotinas adota-se a análise de *pool* de amostras. Esse estudo teve como objetivo comparar a análise de amostras individualizadas e de *pool* de amostras, no diagnóstico parasitológico por microscopia. As amostras foram obtidas de funcionários e estudantes de uma escola municipal de Niteroi e submetidas ao processamento pelas técnicas de Ritchie modificado por Young *et al* (1979), Lutz (1919) e Faust *et al*. (1938). Verificou-se a concordância e a significância estatística entre os resultados obtidos das amostras individuais e em *pool*. Dos 24 participantes, 11 (45,8%) foram positivos. Em nove indivíduos positivos obteve-se concordância substancial (K=0,80) entre os resultados da análise de amostras individuais e em *pool*, o que foi confirmado pela análise estatística ($p < 0,0001$). No entanto, quando foi analisada a associação entre as abordagens empregadas, avaliando-se a análise individual vs. análise em *pool*, no presente estudo, foi observado que não houve diferença estatística significativa entre as taxas de positividade ($p = 0,77$). Quando comparado o resultado do uso de apenas uma amostra individual e do *pool* de amostras, a diferença não foi significativa ($p = 0,75$), indicando que estatisticamente no grupo de amostras analisadas não há diferença entre o uso de uma amostra única ou do *pool* de amostras, embora o último tenha obtido maior número de amostras positivas. O uso do *pool* de amostras fecais para análises de amostras múltiplas representa uma estratégia eficaz no diagnóstico parasitológico por microscopia, o que reduz o tempo de processamento e melhora o custo-benefício, gerando resultado eficaz e confiável.

Palavras-chave: Exame parasitológico de fezes. Amostras fecais múltiplas. Enteroparasitos. Protozoários. Helmintos.

ABSTRACT

In the parasitology sector of clinical laboratories the routine diagnosis of intestinal parasites is usually performed through coprological microscope techniques, based on their low cost and fast processing. In these procedures, with the objective of increase the diagnosis effectiveness is proposed to use fecal samples from different days, because of the intermittently release and heterogeneously distribution of parasitic evolutive forms in feces. The analysis of individual samples from different days increases the work routine, overburdening the sector, increasing the processing time and costs. Alternatively, some routines adopt the analysis of samples in *pool*. This study aimed to compare the results of individual and pooled samples in parasitological diagnosis by microscopy. The samples were obtained from staff and students of a municipal school of Niteroi city and were processed by Ritchie modified by Young *et al.* (1979), Lutz (1919) and Faust *et al.* (1938) techniques. The concordance and statistical significance between the results of individual samples and pooled were analyzed. Of the 24 participants, 11 (45, 8%) were positive. In nine positive samples the results between samples had a substantial agreement (K=0, 80) which was confirmed by statistical analysis ($p < 0, 0001$). However, when was analyzed the association between the approaches employed evaluating individual analysis vs. analysis in *pool* in the present study it was observed that there was no statistically significant difference between the positive rates ($p=0, 77$). When compared the results of using only a single sample and the *pool* samples, the difference was not significant, indicating that there is no difference between using a single sample or pooled samples in the samples group analyzed statistically, although the *pool* samples have increased the positive results. The use of pooled stool is an effective strategy in parasitological microscopy, reducing processing time and improving cost-effective, producing more effective and reliable results.

Keywords: Fecal parasitological examination. Multiple fecal samples. Enteroparasites. Protozoa. Helminths.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Resultados obtidos pela análise de 63 amostras fecais individuais e 24 em *pool* por técnicas parasitológicas de fezes para pesquisa de parasitos intestinas em Niteroi, RJ, f. 26

TABELA 2 – Frequência de parasito por gênero/espécie obtidos da análise de 30 amostras positivas processadas individualmente e em *pool* por técnicas parasitológicas em Niteroi, RJ, f. 27

TABELA 3 – Frequência de parasito por gênero/espécie obtidos da análise de 11 participantes positivos por técnicas parasitológicas em Niteroi, RJ, f. 27

TABELA 4 – Resultado de positividade por gênero/espécie de parasito intestinal obtido por técnicas parasitológicas microscópicas em amostras individuais de três dias diferentes e em *pool* de amostras em Niteroi, RJ, f. 28

TABELA 5 – Resultado de positividade por gênero/espécie de parasito intestinal obtido por técnicas parasitológicas microscópicas em amostras individuais de dois dias diferentes e em *pool* de amostras em Niteroi, RJ, f. 28

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	0
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1. Parasitos intestinais.....	7
2.2. Diagnóstico laboratorial das parasitoses intestinais	8
2.3. Amostra fecal para diagnóstico parasitológico	14
3. JUSTIFICATIVA.....	19
4. OBJETIVOS	20
4.1. Objetivo geral	20
4.2. Objetivos específicos	20
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
5.1. Obtenção de amostras.....	21
5.2. Amostras individualizadas e <i>pool</i> de amostras.....	22
5.3. Pré-processamento das amostras.....	22
5.4. Técnica de Lutz (1919)	23
5.5. Técnica de Faust <i>et al.</i> (1938)	23
5.6. Técnica de Ritchie modificado por Young <i>et al.</i> (1979).....	24
5.7. Considerações éticas.....	25
5.8. Análise estatística.....	25
6. RESULTADOS.....	26
7. DISCUSSÃO	29
8. CONCLUSÃO	34
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
APÊNDICES	41
Apêndice 1- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	42
ANEXOS.....	43
Anexo 1- Considerações éticas.....	43

1. INTRODUÇÃO

Parasitoses intestinais são infecções causadas por helmintos e protozoários que podem acometer os seres humanos (MOURA *et al.*, 1997) e possuem como habitat o intestino. Essas infecções refletem as condições de vida de diferentes indivíduos nas comunidades e a prevalência das mesmas é influenciada por diversos fatores, que, quando existem de formas satisfatórias, coíbem a expansão dessas parasitoses. Por mais que tenha ocorrido uma queda na prevalência de enteroparasitoses no Brasil de maneira geral, essa ainda representa um problema em determinadas regiões do país (CHIEFFI & AMATO NETO, 2003).

As crianças com idade entre zero e cinco anos e as em idade escolar representam grupo de risco para aquisição de parasitoses intestinais por apresentarem princípios básicos de higiene pouco consolidados, por conta da maior exposição, a partir do intenso contato com o solo, das condições imunitárias, dieta e hábitos sociais (LUDWIG *et al.*, 1999, ZAIDEN *et al.*, 2008).

As manifestações clínicas causadas pelos parasitos intestinais são bastante variáveis incluindo diarreia, dor abdominal, anorexia, desanimo, dentre outros. Os quadros graves são mais comuns em pacientes desnutridos, imunocomprometidos ou naqueles em uso prolongado de corticoides, sendo usualmente proporcionais à carga parasitária albergada pelo indivíduo (STEPHENSON *et al.*, 2000, TEIXEIRA & HELLER, 2004, MELO *et al.*, 2004, FLETCHER *et al.*, 2012).

Além dessas questões, os parasitos intestinais, em especial os geo-helmintos, contribuem para baixa frequência escolar e desempenho, limitando as chances de completar a formação escolar com sucesso e de conseguir melhor emprego. As geo-helmintíases inserem-se no grupo das doenças negligenciadas, ou seja, são propiciadas pela pobreza, bem como a promovem (AULT, 2008). Esses parasitos também determinam alterações no desenvolvimento cognitivo e podem causar complicações que requerem intervenção cirúrgica (MONTRESOR *et al.*, 2002).

A maioria das enteroparasitoses é diagnosticada apenas com base em exames clínicos, uma vez que a maioria dos sinais e sintomas são inespecíficos, tornando dessa forma, necessárias investigações laboratoriais para se chegar a um resultado fidedigno (CHEREM *et al.*, 1992). Os exames laboratoriais parasitológicos demonstram ser importantes procedimentos, uma vez que, na maioria das vezes, podem identificar se o indivíduo está parasitado ou não e, se positivo, qual espécie o

está parasitando, direcionando assim, para um tratamento específico adequado (MENEZES *et al.*, 2013).

Para o diagnóstico das doenças parasitárias intestinais, a pesquisa de parasitos intestinais nas fezes, também conhecido como exame parasitológico de fezes (EPF), é considerado fundamental, apesar de frequentemente não merecer a devida atenção por parte dos profissionais de saúde (TIBIRIÇA *et al.*, 2009).

Existem diversos métodos que são utilizados para o diagnóstico de protozoários e helmintos intestinais. Os procedimentos mais utilizados na rotina para diagnosticá-los são as técnicas de enriquecimento coproparasitológico (por sedimentação ou flutuação), pois permitem concentrar formas evolutivas de parasitos, determinar a sua presença e identificá-las corretamente (NAVONE *et al.*, 2005).

Contudo, nem sempre uma técnica indicada para pesquisa de ovos será eficiente na detecção de larvas de helmintos, trofozoítos, cistos ou oocistos de protozoários, sobretudo quando em baixas cargas parasitárias. Dessa forma, muitas vezes é necessária a utilização de diferentes técnicas, tendo-se em vista a variabilidade morfológica e biológica apresentada pelos parasitos intestinais, aumentando a acurácia diagnóstica (ARAÚJO *et al.*, 2003).

Para aumento da acurácia, também se recomenda a análise de múltiplas amostras fecais, pois existe aumento da probabilidade de diagnóstico de enteroparasitoses, uma vez que pode haver variação na liberação de formas evolutivas de parasitos no hospedeiro e na distribuição dessas no bolo fecal. Portanto, a taxa de detecção pode ser aumentada pela coleta de três amostras fecais num intervalo de 2 a 3 dias durante um período de 6 a 10 dias (ALDEEN *et al.*, 1993, KOONTZ & WEINSTOCK, 1996).

Segundo autores, essa prática pode elevar os custos por exame, a carga de trabalho dos profissionais, aumentar o tempo de processamento e ser inconveniente tanto para o médico quanto para o paciente (MORRIS *et al.*, 1992, HIRA *et al.*, 2004, BRANDA *et al.*, 2006).

Uma possível estratégia alternativa a análise de amostras individuais, seria a utilização de amostras em *pool*, uma vez que esta consiste na utilização combinada de duas ou mais amostras fecais de dias diferentes do mesmo paciente, resultando em processamento único. Entretanto, na literatura, são poucos os estudos que avaliam o diagnóstico parasitológico de amostras em *pool* e de amostras individuais (PETERS *et al.*, 1988, WAHLQUIST *et al.*, 1991, ALDEEN *et al.*, 1993, LIBMAN *et al.*, 2008, MEKONNEN *et al.*, 2013, KURE *et al.*, 2015).

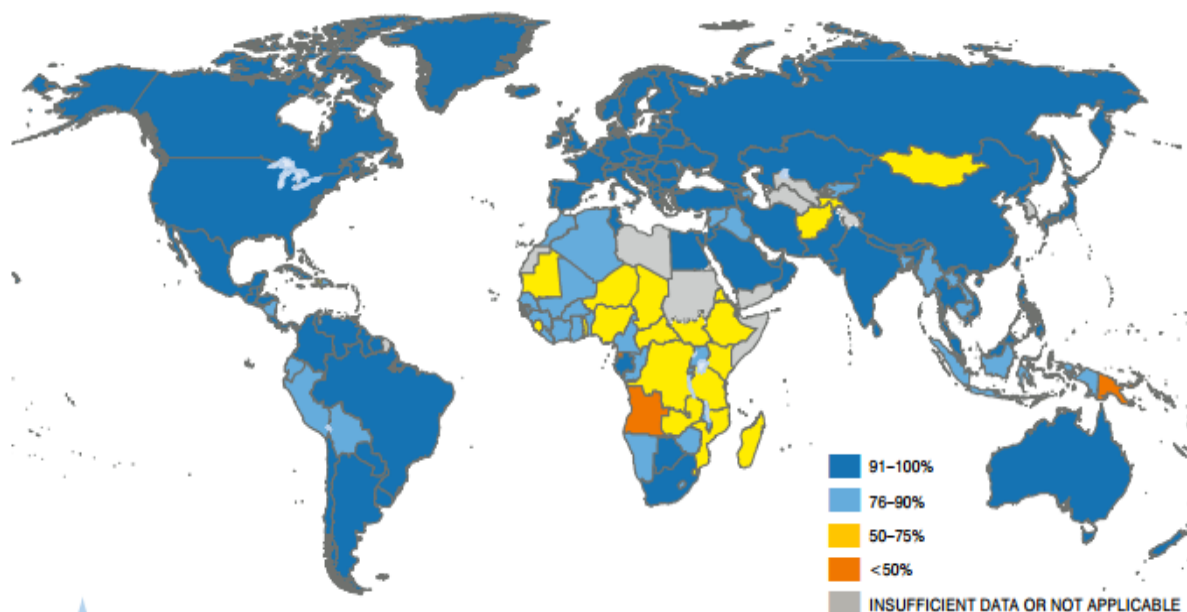
Baseado nesse contexto esse estudo teve como objetivo comparar o uso de amostras individuais de diferentes dias e de *pool* dessas amostras, no que se refere a sensibilidade do diagnóstico de parasitoses intestinais.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

As parasitoses intestinais definem-se em seu “estrito senso” segundo Cantuária *et al.* (2011) como infecções que possuem como agentes etiológicos helmintos ou protozoários que, em pelo menos uma das fases do ciclo biológico, localizam-se no sistema digestório de animais, englobando o ser humano. Essas infecções refletem as condições de vida de diferentes comunidades e a ocorrência das mesmas é influenciada por diversos fatores tais como saneamento básico, educação relacionada à saúde, habitação e hábitos de higiene alimentar, pessoal e coletiva, que, quando existem de formas satisfatórias, coíbem a expansão dessas parasitoses (CHIEFFI & AMATO NETO, 2003, ANDRADE *et al.*, 2010).

De acordo com Chieffi e Amato Neto (2003), de maneira geral, tem ocorrido queda na prevalência de infecção por enteroparasitos no Brasil. Ludwig *et al.* (1999) pensam existir correlação inversa entre a prevalência de enteroparasitos e a população atendida por ligações de água e esgotos, o que explicaria a tendência de queda observada em seu estudo na cidade de Assis, SP. Basso *et al.* (2008) no município de Caxias do Sul, RS, durante período de 1964 a 2004, também verificaram queda de 89% para 37% na prevalência geral de enteroparasitos. Como informado pelo Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento houve real melhora do setor de Saneamento Básico. Em análise do período de 2004 a 2014, verificou-se que as porcentagens de população total com água, com coleta de esgotos e de tratamento dos esgotos gerados, evoluíram 3%, 29,9% e 30,3%, respectivamente (BRASIL, 2014). Segundo relatório da Organização Mundial da Saúde (2015) de atualização sobre o progresso do saneamento e de água potável, mais de 90% da população brasileira tem acesso à água potável (Figura 1).

Figura 1 – Proporção da população utilizando fontes de água potável em 2015.



Fonte: Who, 2015.

Todavia, em muitas áreas de nosso país ainda são observados altos índices de infecção por parasitos intestinais, quer pela persistência de condições de vida menos privilegiadas, quer pela existência de condições epidemiológicas favoráveis (WALDMAN & CHIEFFI, 1989).

Como informado pelo Relatório de Desenvolvimento Humano publicado pelo Programa de Desenvolvimento das Nações Unidas, embora alguns países tenham feito enormes progressos no que se refere à diminuição da pobreza, mais de 1,2 bilhões de pessoas em países em desenvolvimento não possuem acesso a fontes de água potável e mais de 2,4 bilhões não possuem adequadas condições de saneamento (PNUD BRASIL, 2000). Também, segundo informações dos Indicadores de Pobreza do World Bank Group, no Brasil, cerca de 7,4% da população vive abaixo da linha da pobreza (WBG, 2014).

Além disso, a ampla diversidade de características socioeconômicas, climáticas e geográficas do nosso país tem sido apontada como fator modelador da frequência dos diferentes enteroparasitos, demonstrando assim que parte da população brasileira se encontra em condições facilitadoras para aquisição de parasitoses intestinais (WALDMAN & CHIEFFI, 1989, SCHNACK *et al.*, 2003, ANDRADE *et al.*, 2010).

A distribuição geográfica e a frequência em que parasitoses intestinais são encontradas em determinadas localidades dependem de interações complexas entre hospedeiros, parasitos e o ambiente (CHIEFFI & AMATO NETO, 2003). A relação do parasito com seu hospedeiro precisa, dentre outros elementos, de condições ecológicas que permitam o encontro entre ambos e de condições fisiológicas que permitam a adaptação do parasito ao meio constituído pelo organismo do hospedeiro. A estrutura do tegumento, o pH das secreções, a composição química, a temperatura, a resposta imunológica, podem dificultar ou impedir esse processo de adaptação. Fatores ligados ao comportamento do ser humano como hábitos alimentares, local de defecação podem ser também, de grande importância no processo. Além de fatores ligados ao meio ambiente, sendo ele o meio físico ou o organismo do hospedeiro, como por exemplo, a existência de várias espécies de parasitos num mesmo hospedeiro se influenciando, a carência de alimentação, umidade do ar, entre outros (FERREIRA, 1973).

Os parasitos intestinais, na maioria dos casos, são transmitidos por via oral de forma passiva através da ingestão de alimentos ou água contaminados com formas evolutivas parasitárias ou, com menor frequência, por via cutânea de forma ativa por penetração das larvas (CHEHTER *et al.*, 1995, UCHÔA *et al.*, 2009). Condições precárias de vida podem facilitar a disseminação de ovos, cistos e larvas no ambiente (UCHÔA *et al.*, 2009). Dessa forma, as infecções parasitárias são mais frequentes em indivíduos de baixa renda, afetando pessoas de todas as faixas etárias, entretanto, as crianças são as mais acometidas, principalmente, as com idade entre zero a cinco anos e as em idade escolar (STEKETEE, 2003, SANTO *et al.*, 2006, PEREIRA *et al.*, 2011).

As crianças representam grupo de risco para aquisição de parasitoses intestinais por apresentarem princípios básicos de higiene ainda não consolidados e da maior exposição ao solo (LUDWIG *et al.*, 1999). Além desses fatores, as crianças encontram-se em um período em que estão ocorrendo mudanças em relação: à resposta imunológica aos parasitos; aos hábitos pessoais, sociais e alimentares, como introdução de alimentos crus na dieta; a diminuição dos cuidados diretos e ao maior contato com outras crianças e animais domésticos, favorecendo a aquisição de parasitos (ZAIDEN *et al.*, 2008).

O espectro clínico das infecções por enteroparasitos varia de quadros assintomáticos até quadros com clínica variada (SANTOS *et al.*, 2014). As

manifestações clínicas podem ser inespecíficas nos quadros associados à pequena carga parasitária, tais como anorexia, irritabilidade, distúrbios do sono, náuseas, vômitos ocasionais, dor abdominal e diarreia. Os quadros graves são mais comuns em pacientes desnutridos, imunocomprometidos ou naqueles em uso prolongado de corticoides ou imunossupressores (MELO *et al.*, 2004), podendo levar a diversas complicações, associadas à espécie parasitária, dentre elas: a obstrução intestinal nas infecções por *Ascaris lumbricoides*; a desnutrição nas infecções por *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*; a anemia por deficiência de ferro nas infecções por ancilostomídeos, quadros de diarreia e má absorção de nutrientes como nas infecções por *Entamoeba histolytica* e *Giardia duodenalis* e quadros importantes de diarreia persistente nas infecções por *Cryptosporidium* sp., *Cystoisospora* sp. e *Cyclospora cayetanensis* (MELO *et al.*, 2004, TEIXEIRA & HELLER, 2004, FLETCHER *et al.*, 2012).

2.1. Parasitos intestinais

No Brasil, os estudos mais recentes que objetivam dimensionar a prevalência das enteroparasitoses são escassos e pontuais. A maioria deles utiliza amostras de bases populacionais que vão refletir a realidade de determinadas localidades, não sendo, portanto, representativos de todos os segmentos da população. Dessa forma, torna-se difícil estabelecer quais as reais prevalências dos parasitos intestinais no nosso país (WALDMAN & CHIEFFI, 1989, FALEIROS *et al.*, 2004, BASSO *et al.*, 2008, ANDRADE *et al.*, 2010).

Em estudos recentes, os parasitos intestinais mais frequentemente encontrados são entre os protozoários: *Endolimax nana*, *Entamoeba coli*, *Giardia duodenalis*, *Blastocystis* sp., *Entamoeba hartmanni*, *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, e os helmintos são: *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e Ancilostomídeos, com suas frequências variando entre os estudos (BAPTISTA *et al.*, 2013, MAGALHÃES *et al.*, 2013, SANTOS *et al.*, 2014, PACHECO *et al.*, 2014, LEITE *et al.*, 2014, SILVA *et al.*, 2015, PEREIRA *et al.*, 2015).

Endolimax nana, *Entamoeba hartmanni* e *Entamoeba coli* são considerados parasitos não patogênicos, contudo a presença desses no trato gastrintestinal, embora sem valor clínico, tem grande importância epidemiológica, pois está relacionada à contaminação com matéria fecal de alimentos e água de consumo

humano, que constituem os mesmos veículos para a transmissão dos outros protozoários potencialmente patogênicos, não sofrendo interferência pelo uso indiscriminado de anti-helmínticos (PEREIRA *et al.*, 2011, CUNHA *et al.*, 2013).

Com relação ao protozoário *Blastocystis* sp., ainda existe divergências sobre sua patogenicidade em humanos. Inicialmente, este foi considerado um organismo não patogênico, porém diversos estudos epidemiológicos, *in vivo* e *in vitro*, sugerem que este é um organismo patogênico ou oportunista que está associado a diversas perturbações gastrintestinais e extraintestinais. Há relatos de pacientes que possuem sintomas intestinais e não há identificação de nenhuma outra causa da doença, como presença de outros parasitos patogênicos, bactérias ou fungos, sendo a blastocistose a única infecção detectada. Entretanto, se desconhece qual é a associação das diferentes formas evolutivas e subtipos do gênero *Blastocystis* com a doença, que se observa em alguns pacientes (TAN, 2008, VALENCIA & ROJAS-CRUZ, 2012, PARIJA & JEREMIAH, 2013, ROBERTS *et al.*, 2014, AMAYA *et al.*, 2015).

2.2. Diagnóstico laboratorial das parasitoses intestinais

A maioria das enteroparasitoses apresenta-se de forma assintomática ou oligossintomática com sinais e sintomas inespecíficos, o que dificulta o diagnóstico clínico, tornando dessa forma, necessárias investigações laboratoriais para confirmação etiológica (CHEREM *et al.*, 1992).

Os exames laboratoriais parasitológicos demonstram ser importantes procedimentos, uma vez que podem ser capazes de identificar se o indivíduo está infectado ou não e, se positivo, qual espécie o está parasitando, direcionando assim, para um tratamento específico (MENEZES *et al.*, 2013). Esses exames também poderão ser utilizados para estabelecer os critérios de cura dos pacientes, estimar a situação epidemiológica, sinalizar o desenvolvimento de resistência a drogas e para monitorar a eficácia dos programas de controle de endemias (TARAFDER *et al.*, 2010, HARHAY *et al.*, 2011). Várias técnicas têm sido desenvolvidas e avaliadas para uso em rotina de laboratórios e serviços de saúde; outras para aplicações particulares, interessando, sobretudo à investigação científica. Nesse contexto, têm sido utilizados cada vez mais procedimentos imunológicos baseados em captura de coproantígenos e moleculares (KOONTZ & WEINSTOCK, 1996, McHARDY *et al.*, 2014, LLEWELLYN *et al.*, 2016).

O exame parasitológico de fezes (EPF) por microscopia é considerado fundamental, por tratar-se de um exame relativamente rápido e de baixo custo operacional, sendo amplamente utilizado na rotina laboratorial para o diagnóstico das infecções parasitárias intestinais, apesar de frequentemente, não merecer a devida atenção por parte dos profissionais de saúde que, por vezes, dedicam-se a técnicas mais sofisticadas e dispendiosas de diagnóstico, ou até mesmo dispensam o exame parasitológico em prol do tratamento profilático ou presuntivo (TIBIRIÇA *et al.*, 2009, MENEZES *et al.*, 2013, HARHAY *et al.*, 2014). As formas evolutivas parasitárias evidenciadas no diagnóstico laboratorial microscópico em fezes são os ovos e as larvas de helmintos e os trofozoítos, cistos e oocistos de protozoários (DE CARLI, 2001).

Uma identificação segura e correta de um parasito intestinal por microscopia depende de sua identificação por dimensão e por critérios morfológicos, os quais estão diretamente relacionados a uma coleta adequada e a uma boa preservação dos espécimes fecais (DE CARLI, 2001).

A coleta do material fecal deve ser realizada em recipiente à prova de água, limpo, seco e que tenha vedação hermética, para impedir o vazamento ou a contaminação por elementos externos, permitindo a preservação da amostra. Esse deve ser grande suficiente para acomodar, pelo menos, 30 mL de fezes líquidas. O paciente deve defecar diretamente no recipiente ou num recipiente maior que permita a transferência das fezes para o pote de coleta. Não devem ser usadas fezes excretadas diretamente no solo, pois podem ser contaminadas com larvas de nematoides de vida livre ou com outros contaminantes, nem fezes obtidas diretamente de vasos sanitários, pois a água e a urina podem alterar as formas trofozoíticas, além do risco de contaminação por formas evolutivas presentes nesse suporte (KOONTZ & WEINSTOCK, 1996, DE CARLI, 2001).

Para permitir um exame adequado, uma quantidade mínima de 20 a 30g deve ser enviada ao laboratório. Essa conduta abastece o laboratório com material suficiente para a realização de várias técnicas (DE CARLI, 2001). Koontz e Weinstock (1996) propõem o envio de fezes totais ao laboratório, pois permite ao profissional selecionar uma porção específica para o exame a partir de suspeita de determinado parasito intestinal.

O EPF compreende duas principais etapas: o exame macroscópico e o exame microscópico. As amostras fecais não preservadas devem ser examinadas

macroscopicamente para determinar a consistência, o odor, a cor, a presença ou a ausência de sangue, de muco, de proglotes e de helmintos ou outras condições anormais. O exame microscópico consiste na procura de qualquer forma evolutiva parasitária combinada com a observação de estruturas internas permitindo a identificação do parasito a nível de espécie (KOONTZ & WEINSTOCK, 1996). Para tal, a amostra fecal é processada por meio de diferentes métodos, que pode incluir o exame direto (DE CARLI, 2001). Os métodos de processamento de amostras fecais, com exceção do exame direto, são também conhecidos como métodos de enriquecimento coproparasitológico, pois permitem concentrar formas evolutivas de parasitos, determinar a sua presença e permitir sua correta identificação (NAVONE *et al.*, 2005).

O exame direto a fresco é um procedimento simples, barato, rápido e eficiente para o diagnóstico, principalmente em fezes diarreicas com ausência de conservantes, permitindo observar os trofozoítos dos protozoários vivos e até mesmo outros estágios evolutivos de protozoários e de helmintos (KOONTZ & WEINSTOCK, 1996). Entretanto, apresenta algumas desvantagens como a pequena porção da amostra fecal que é utilizada para o procedimento, não sendo representativo da amostra fecal total, o que pode levar a resultados falsamente negativos, principalmente quando em baixas cargas parasitárias. Também, a presença de muito material orgânico na lâmina pode dificultar o encontro das formas evolutivas pelo microscopista e, portanto, o diagnóstico (MACHADO *et al.*, 2001).

Para a obtenção de melhores resultados torna-se necessário, além do exame direto, o uso de técnicas de concentração, pois segundo Araújo *et al.* (2003), nem sempre uma técnica indicada para pesquisa de ovos será eficiente na detecção de larvas de helmintos, trofozoítos, cistos ou oocistos de protozoários, sobretudo quando em baixas cargas parasitárias. Dessa forma, muitas vezes é necessária a utilização de diferentes técnicas, tendo-se em vista a variabilidade morfológica e biológica apresentada pelos parasitos intestinais, aumentando a acurácia diagnóstica.

As técnicas de concentração figuram entre os principais procedimentos de rotina para a pesquisa de parasitos intestinais e para o diagnóstico de um pequeno número de organismos que não foram detectados, quando foi usado somente o exame direto a fresco. Essas técnicas têm por objetivos: aumentar o número de formas evolutivas de parasitos na preparação; eliminar a maioria dos detritos fecais; e apresentar os organismos em um estado inalterado, facilitando sua identificação. As

técnicas de concentração são organizadas didaticamente, a partir de seu fundamento principal, sendo classificadas em: flutuação e sedimentação, associados ou não a centrifugação (ORIHÉL, 1997, DE CARLI, 2001, NAVONE *et al.*, 2005).

As técnicas de sedimentação são utilizadas para observação de cistos e oocistos de protozoários, ovos e larvas de helmintos que são sedimentados pela ação da gravidade ou com auxílio de centrífuga. As formas evolutivas dos parasitos ficam depositadas no fundo do tubo/ cálice de sedimentação, enquanto os detritos são suspensos para a superfície, não interferindo no diagnóstico final. A desvantagem dessas técnicas é que as preparações finais contêm mais resíduos do que nos procedimentos de flutuação, tornando a identificação morfológica microscópica mais difícil. Apesar desse fato, essas técnicas são comumente aplicadas na rotina laboratorial ou em inquéritos epidemiológicos por serem de baixo custo e de fácil execução, terem baixa probabilidade de erros técnicos e recuperarem uma grande variedade de organismos (NAVONE *et al.*, 2005, TIBIRIÇA *et al.*, 2009, GONÇALVES *et al.*, 2014).

As técnicas de flutuação permitem que os cistos e oocistos de protozoários e ovos de helmintos de pequena e média densidade sejam separados de resíduos, mediante o uso de soluções de densidade pré-determinada e maior que da água. As principais vantagens apresentadas pelas técnicas de flutuação são que as formas evolutivas parasitárias são recuperadas em uma membrana superficial clara, com poucos detritos fecais e os elementos de maior densidade se mantêm no fundo do tubo. Dessa forma, as lâminas para leitura microscópica são mais limpas do que as obtidas pelas técnicas de sedimentação. Em compensação, como desvantagem pode-se ter deformação da parede dos ovos mais delicados e dos cistos, dificultando a identificação. Além disso, há a possibilidade de perda de ovos mais densos de helmintos, subestimando os resultados (KOONTZ & WEINSTOCK, 1996, NAVONE *et al.*, 2005).

Além desses métodos que são classificados como qualitativos, pois possuem como objetivo determinar a presença ou ausência do parasito, existem os quantitativos. Os métodos quantitativos objetivam além do diagnóstico do parasito, mensurar a carga parasitária a partir, da contagem de ovos encontrados por grama de fezes. A utilização desses métodos só é possível para diagnóstico de alguns helmintos em que é observada tal correlação entre a intensidade do parasitismo e a liberação de ovos como: *Ascaris lumbricoides*, *Schistosoma mansoni*, *Trichuris*

trichiura e os ancilostomídeos (DE CARLI, 2001). Koontz e Weinstock (1996) apontam que em infecções por nematoides ocorre liberação contínua de ovos nas fezes como no caso das infecções por ancilostomídeos e *Ascaris lumbricoides*.

A determinação da carga parasitária pode auxiliar no acompanhamento de cura de pacientes, e também ser útil na avaliação da morbidade, já que em geral se observa relação positiva entre carga parasitária e gravidade da doença. Além disso, a avaliação da intensidade das infecções possibilita estimar a probabilidade de transmissão entre membros de uma mesma família ou entre indivíduos de uma mesma comunidade, ou estimar as condições sanitárias a que estão submetidas às populações e o impacto das ações de controle (HALL, 1982, CASTILHO *et al.*, 1984, MASCIE-TAYLOR *et al.*, 1999). As determinações quantitativas são valorizadas nos estudos epidemiológicos, especialmente para inquéritos em massa com destaque para uso da técnica de Kato-Katz por conta da facilidade de sua execução (DANTAS & FERREIRA, 1973). Assim como todos os métodos, esses também apresentam suas limitações. Segundo resultados de Araújo *et al.* (2003) em concordância com os de Mendes *et al.* (2005), a detecção de ovos utilizando métodos quantitativos em amostras de indivíduos com baixa carga parasitária pode levar a uma determinação subestimada da prevalência das parasitoses.

Embora o diagnóstico de certeza da infecção parasitária ocorra, em geral, pela demonstração da presença do parasito utilizando um microscópio óptico, nem sempre isso é possível. Os laboratórios de análises clínicas enfrentam desafios na detecção microscópica de parasitos intestinais, uma vez que dependem de procedimentos particularmente trabalhosos, muitos deles pouco sensíveis, exigem profissionais altamente capacitados, tanto na leitura quanto no manuseio da amostra e na preparação de lâminas, entre outros (CLINE *et al.*, 2000, BRANDA *et al.*, 2006, McHARDY *et al.*, 2014).

Como alternativa, os métodos imunológicos diretos ou indiretos têm sido muito empregados para detectar antígenos, anticorpos ou imunocomplexos relacionados com a existência de infecções por parasitos intestinais. Esses apresentam, em geral, boa sensibilidade e especificidade, não requerem treinamento para leitura microscópica morfológica para sua realização, oferecem resultado rápido e de fácil interpretação. Algumas técnicas permitem a diferenciação entre infecções passadas e recentes, e, em alguns casos, podem fazer a distinção de espécies isomórficas do

mesmo gênero como *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar*, tornando-as ferramentas úteis para o diagnóstico (CORRIPIO *et al.*, 2010).

No entanto, esses métodos também apresentam limitações. Por exemplo, existe certa dificuldade de padronização desses métodos, por conta da resposta imunológica e da frequente semelhança entre os antígenos constituintes dos parasitos. A resposta imunológica representa um problema, pois são detectados anticorpos em pacientes com a doença, naqueles que já estão curados da infecção, bem como naqueles que tiveram contato com o parasito, mas não ficaram doentes e nos vacinados, dificultando assim, o diagnóstico de uma infecção real e também, a diferenciação entre uma infecção passada e recente, com exceção dos vacinados. Outra limitação dos métodos imunológicos relaciona-se aos custos de produção de antígenos/anticorpos específicos purificados, que geralmente são muito altos e, assim, preparações de antígenos/anticorpos brutos são frequentemente utilizadas, resultando na redução da especificidade e sensibilidade (SINGH, 1997, UECKER, 2001).

Métodos moleculares ou à base de pesquisa de DNA para detecção de parasitos têm sido utilizados com maior frequência no diagnóstico microbiológico e parasitológico moderno. A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é muito sensível e específica, sendo utilizada como ferramenta para diferenciar, determinar e genotipar espécies de parasitos. Como PCR em tempo real e o PCR multiplex, o tempo para obtenção de um resultado e o risco de contaminações diminuem. Os procedimentos foram adaptados para análises quantitativas e de diversidade parasitária, sendo capazes de detectar cargas parasitárias baixas. O PCR multiplex tornou possível a detecção simultânea de vários parasitos, diminuindo o custo com reagentes e o tempo total de processamento. Dessa forma, esses se tornam métodos alternativos ou complementares comparados àqueles baseados na microscopia (SINGH, 1997, MEJIA *et al.*, 2003, QVARNSTROM *et al.*, 2005, HOVE *et al.*, 2008, LLEVELLYN *et al.*, 2016).

Apesar da maior sensibilidade e especificidade, os métodos moleculares requerem procedimentos mais complexos. Além disso, os custos de instalação e manutenção dos equipamentos e a compra dos reagentes são mais elevados quando comparado com os procedimentos microscópicos. Por conta disso, tais ensaios estariam limitados aos principais hospitais universitários e laboratórios de referência, sendo utilizados, principalmente, para estudos epidemiológicos e pesquisas. Dessa

forma, a microscopia permanece como ferramenta diagnóstica mais utilizada na rotina laboratorial para busca por parasitos intestinais, apesar de sua menor sensibilidade (SINGH, 1997, McHARDY *et al.*, 2014).

2.3. Amostra fecal para diagnóstico parasitológico

Um ponto crítico no diagnóstico parasitológico microscópico é a amostra fecal. A análise de uma única amostra pode recuperar apenas algumas das formas evolutivas dos parasitos que estão infectando o hospedeiro. Essa situação pode estar relacionada à liberação intermitente de formas evolutivas por alguns helmintos como *Schistosoma mansoni* e protozoários como *Giardia duodenalis* (KOONTZ & WEINSTOCK, 1996). Hira *et al.* (2004) relataram que no diagnóstico da estrogiloidíase o uso de uma única amostra determina a não detecção de vários casos e que o uso de amostra múltiplas nem sempre é solicitado pelo médico devido a inconveniência, demorar muito tempo para obter o resultado e este não ter influência direta no tratamento, associado a relutância do paciente em realizar esse tipo de coleta.

Além disso, já foi observado que a distribuição de formas evolutivas fezes do paciente pode variar nas diferentes porções de um mesmo bolo fecal, estando essa variação relacionada à espécie do parasito, à sua localização ao longo do tubo digestório, à quantidade e ao tipo de alimento ingerido pelo hospedeiro e ao movimento peristáltico, que promove mistura não-uniforme das estruturas com as fezes (KOONTZ & WEINSTOCK, 1996, ARAÚJO *et al.*, 2003).

O uso de amostras fecais únicas e múltiplas para o diagnóstico confiável de parasitos intestinais tem sido abordado na literatura por alguns autores como: Morris *et al.* (1992), Hiatt *et al.* (1995), Koontz e Weinstock (1996), Cartwright (1999), Branda *et al.* (2006).

Morris *et al.* (1992) relataram que 68 dos 75 pacientes positivos para enteroparasitos tiveram a infecção determinada a partir da análise de uma única amostra. Dentre os parasitos evidenciados, *Blastocystis* sp. foi o mais frequente ocorrendo em 62 (39%) amostras, seguido por *Giardia duodenalis* (52 a 33%) e *Endolimax nana* (17 a 11%).

Contraopondo a proposta de uso de amostra única, Hiatt *et al.* (1995) sugerem o uso de amostras múltiplas, principalmente no diagnóstico de protozoários intestinais.

Os autores verificaram que uma amostra foi capaz de detectar 88,1% das infecções por *Giardia duodenalis*, 73% das por *E. histolytica* e 71,2% por *Dientamoeba fragilis*, considerando pacientes sintomáticos. No caso de infecção por *E. histolytica* o diagnóstico só foi confirmado em 13 pacientes com o exame de 4 a 9 amostras.

Para aumento da acurácia diagnóstica, frente a menor eficiência de uma única amostra, recomenda-se a análise de múltiplas amostras fecais, o que eleva a probabilidade de encontro de formas evolutivas dos parasitos (WAHLQUIST *et al.*, 1991, HIATT *et al.*, 1995, KOONTZ & WEINSTOCK, 1996, FERNANDES *et al.*, 2012). Preconiza-se análise de três amostras fecais coletadas num intervalo de 2 ou 3 dias durante um período de 6 a 10 dias (ALDEEN *et al.*, 1992, KOONTZ & WEINSTOCK, 1996).

Todavia, a prática estabelecida de coleta de múltiplas amostras fecais eleva os custos, o tempo para obtenção de resultado e a carga de trabalho. Além disso, existe contínuo debate na literatura científica da real necessidade de análise de amostras múltiplas por paciente para a detecção confiável de parasitos intestinais. Andrews (1934), Sawitz e Faust (1942), Hiatt *et al.* (1995) e Cartwright (1999) defenderam a análise em separado de múltiplas amostras fecais no diagnóstico parasitológico, porém outros têm proposto o uso de amostras fecais em *pool* resultando em um processamento único (PETERS *et al.*, 1988, WAHLQUIST *et al.*, 1991, ALDEEN *et al.*, 1993, LIBMAN *et al.*, 2008, MEKONNEN *et al.*, 2013, KURE *et al.*, 2015). Também tem sido proposta a aplicação de um esquema para pacientes sintomáticos que requer inicialmente a coleta e processamento de amostra única e mediante um resultado negativo com persistência das manifestações clínicas, a análise de uma segunda ou terceira amostra (SENAY & MACPHERSON, 1989, MORRIS *et al.*, 1992, BRANDA *et al.*, 2006).

Senay e Macpherson (1989) afirmaram que 93,5% das parasitoses intestinais foram diagnosticadas na primeira amostra e que o acréscimo de uma segunda amostra incrementou em 4% o diagnóstico. Cartwright (1999) obteve 75,9% de eficiência com a primeira amostra e 92% pela adição de uma segunda amostra. Em ambos os estudos a inclusão de uma terceira amostra não resultou em diferença de acurácia que justificasse a sobrecarga de trabalho e custo.

Dessa forma, o uso de amostras fecais em *pool* poderia funcionar como boa ferramenta para contornar o problema da sobrecarga de trabalho e custo, uma vez que este consiste na combinação de material fecal de duas ou mais amostras de dias

diferentes do mesmo paciente e conseqüentemente, na realização de processamento único.

Peters *et al.* (1988) compararam a sensibilidade da mistura de três amostras individuais em uma única com os resultados obtidos pela análise de amostras individuais. Foram examinados 123 conjuntos, cada um composto por três frascos com amostras individuais conservadas em solução de formalina a 10% e um frasco com as amostras em *pool*. Dos conjuntos analisados, 31 foram positivos. Em dois casos, a amostra em *pool* foi negativa, enquanto uma ou todas as três amostras individuais do conjunto foram positivas. Em oito casos, a amostra em *pool* foi positiva, enquanto todas as amostras individuais do conjunto foram negativas, fato associado a número insuficiente de formas evolutivas em uma ou em múltiplas amostras. Nas amostras em *pool* não foi possível a detecção de apenas dois gêneros/espécies de parasitos, fato associado à pequena quantidade de formas evolutivas e em apenas uma amostra. Dessa forma, o estudo concluiu que a utilização de amostras em *pool* pode ser um método útil e econômico para detectar formas evolutivas de parasitos intestinais, podendo a coleta ser realizada pelo próprio paciente em um único recipiente, reduzindo o tempo requerido para mistura das amostras.

Wahlquist *et al.* (1991) compararam os resultados de 267 amostras em *pool* com os resultados de suas amostras individuais preservadas em formalina para diagnóstico de *Giardia duodenalis* e obtiveram positividade em 35 crianças. Dessas, 33 foram diagnosticadas pelo *pool* e 34 pela análise das amostras individualizadas. Duas amostras negativas no *pool* tornaram-se positivas após reavaliação das amostras individualizadas. Os autores verificaram que quando duas ou mais amostras individuais eram positivas, a sensibilidade do *pool* era de 100%. A sensibilidade diminuía para 88% quando apenas uma única amostra individual era positiva. O trabalho concluiu que o uso de amostras em *pool* pode ser útil no diagnóstico de *Giardia duodenalis* economizando tempo e dinheiro. Os autores recomendam que o paciente continue a fazer a coleta individualizada, o que permitiria a reavaliação de amostras individuais caso necessário.

Aldeen *et al.* (1993) analisaram comparativamente a recuperação de parasitos intestinais em amostras fecais em *pool* preservadas em formalina com a recuperação em três amostras individuais de 265 pacientes. Das 795 amostras individuais, 327 (41%) foram positivas em 109 pacientes. Em 265 amostras em *pool*, 108 (40%) foram positivas para protozoários e/ou helmintos. Foi visualizado um único caso na qual a

amostra em *pool* foi negativa para *Blastocystis* sp., sendo que duas amostras individuais foram positivas num conjunto de três. Todas as amostras foram lidas pelo mesmo microscopista para eliminar inconsistências de leitura. Os autores observaram eficiência do *pool* no diagnóstico de protozoários como *Giardia duodenalis* e amebídeos que liberam cistos de forma intermitente, bem como para helmintos. Segundo os autores, o *pool* não promove a diluição de formas evolutivas de parasitos a ponto de não serem detectadas pelas técnicas de rotina, portanto representa uma estratégia eficiente para redução da carga de trabalho ou quando múltiplas amostras são recebidas de uma única vez no laboratório.

Libman *et al.* (2008) desenvolveram uma ferramenta intralaboratorial, baseada na resubmissão cega de pares de amostras fecais com objetivo de analisar a reprodutibilidade dos resultados, para uso em programa de controle de qualidade e também, a utilizaram para avaliar o efeito da mistura de amostras fecais. Os autores avaliaram 231 pares de amostras, sendo a seleção determinada pela quantidade suficiente de material fecal. As duas amostras resubmetidas foram misturadas em uma única e foi verificado que a concordância dos resultados foi alta tanto para protozoários não patogênicos quanto para patogênicos. Os autores observaram que quando não havia concordância entre os resultados, o *pool* era frequentemente mais positivo que as amostras em par. A análise do *pool* apresentou a mesma sensibilidade para detecção da presença de protozoários quanto a análise individual das mesmas amostras, com melhor custo-benefício. Foram detectadas de um total de 9376 amostras, 35,7% de positividade para diversas espécies de protozoários, sendo esses mais frequentes que os helmintos. *Blastocystis* sp. (29%) foi o protozoário mais frequente, seguido por *Endolimax nana* (12,7%) e *Entamoeba coli* (9,8%). *Giardia duodenalis* ocorreu em 4,2% das amostras.

Dois autores compararam o uso de amostras fecais únicas individuais com *pool* de amostras fecais de diferentes pacientes para avaliar intensidade de infecção causada por helmintos transmitidos pelo solo (MEKONNEN *et al.*, 2013, KURE *et al.*, 2015) e por *Schistosoma mansoni* (KURE *et al.*, 2015) e verificaram que o *pool* é uma estratégia rápida e promissora na saúde pública para avaliação da intensidade da infecção. Mekonnen *et al.* (2013) ressaltaram ainda que essa estratégia é válida para garantir a escolha apropriada de fármacos, monitorar resistência anti-helmíntica e avaliar o impacto a longo prazo dos programas de controle dos helmintos transmitidos pelo solo.

3. JUSTIFICATIVA

A pesquisa de formas evolutivas de parasitos intestinais por análise fecal com microscopia constitui o principal recurso utilizado em laboratórios de Análises Clínicas para o correto diagnóstico, apresentando rapidez de execução, simplicidade de processamento e baixo custo. Para esse diagnóstico são utilizadas técnicas com fundamentos diversos, sendo que a combinação dessas técnicas resulta em maior acurácia diagnóstica. Essa acurácia sofre interferência também pela intermitência de liberação de formas evolutivas dos parasitos intestinais durante o período de infecção. Para minimizar esse problema propõe-se a utilização de amostras fecais de dias diferentes, o que impacta diretamente na rotina laboratorial. Como alternativa, alguns estudos propõem a mistura das amostras para obtenção de um *pool*, o qual é submetido ao processamento técnico de escolha. Na literatura poucos estudos comparam resultados parasitológicos obtidos por amostras individualizadas e em *pool* de amostras. Dessa forma, esse estudo justifica-se com objetivo de ampliar as informações sobre a temática de procedimentos na rotina do diagnóstico parasitológico em amostras fecais com objetivo de obter resultados com maior confiabilidade e eficácia e menor tempo e custo.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Analisar o uso de amostras de fezes individualizadas e amostras de fezes em *pool* de um mesmo indivíduo no diagnóstico de parasitos intestinais por microscopia.

4.2. Objetivos específicos

- Detectar frequência de parasitos intestinais em amostras fecais por análise de amostras individuais de dias diferentes.
- Detectar frequência de parasitos intestinais em amostras fecais em *pool* de um mesmo indivíduo.
- Comparar a concordância entre os resultados obtidos pela análise de amostras individuais e em *pool* de um mesmo indivíduo quanto à positividade e diversidade de espécies de parasitos intestinais diagnosticados.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Obtenção de amostras

As amostras foram obtidas de profissionais e de estudantes do ensino fundamental I e II da Escola Municipal Dr. Alberto Francisco Torres localizada na cidade de Niterói, durante período de maio a junho de 2016. Esta escola atende a 267 estudantes do 1º ano do Ensino Fundamental I ao 9º ano do Ensino Fundamental II e a 55 funcionários. A participação dos profissionais ao projeto foi voluntária e mediante assinatura dos mesmos ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). No caso dos escolares, a participação também foi voluntária e se deu mediante assinatura dos pais ou responsáveis legais ao TCLE (Apêndice 1).

Para a realização da análise coproparasitológica, foi entregue um *kit* coletor ao profissional e aos pais ou responsáveis legais pelo aluno participante para coleta das amostras fecais. Esse *kit* continha três recipientes de plástico, sendo dois com conservante Railliet-Henry e um sem conservante (amostra fresca).

Após a entrega do *Kit*, a coleta foi orientada de forma oral e por escrito que deveria ser realizada em dias diferentes, sendo eles consecutivos ou alternados; as amostras sem conservante deveriam ser coletadas no dia anterior a entrega, devendo essa amostra ser acondicionada em geladeira. Foi recomendada que uma quantidade mínima de amostra fecal de 40g fosse selecionada, possibilitando a aplicação de todas as técnicas e a realização do *pool*.

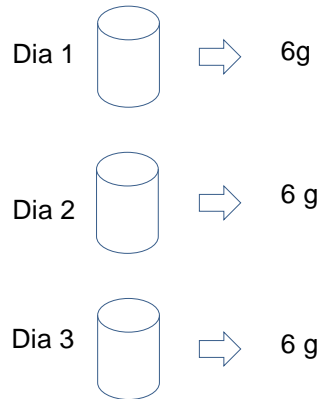
Parte das amostras foi separada e processada na rotina do laboratório de Bioagentes Ambientais da UFF para determinação de positividade e negatividade, utilizando as técnicas de Lutz (1919), Ritchie modificado por Young *et al.* (1979) e Faust *et al.* (1938). Outra parte foi reservada para realização desse estudo, tendo sido inseridas aquelas que apresentaram quantidade suficiente de amostra fecal.

As amostras individuais e em *pool* foram processadas, posteriormente por três técnicas: Lutz (1919), Ritchie modificado por Young *et al.* (1979) e Faust *et al.* (1938). Foi realizada a leitura de uma lâmina de cada técnica em microscópio óptico em aumento de 100X e confirmação quando necessária em aumento de 400X.

5.2. Amostras individualizadas e *pool* de amostras

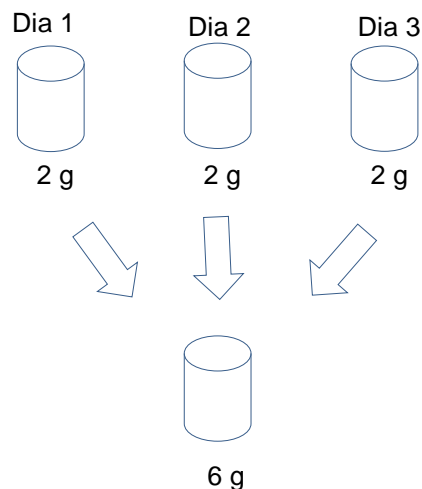
Para essa etapa, a amostra fecal de cada dia, coletada de forma individual, foi pesada e foram separados seis gramas para realização de todas as técnicas (Figura 2). Antes da separação, a amostra fecal era homogeneizada.

Figura 2 – Esquema utilizado para a separação das amostras fecais individuais para realização das três técnicas coproparasitológicas



Para confecção do *pool*, foram pesados 2 g adicionais de cada dia, que foram transferidos para outro coletor plástico primoutilizado e homogeneizados, totalizando 6 gramas (KURE *et al.*, 2015), como pode ser visualizado na figura abaixo (Figura 3).

Figura 3 – Esquema para confecção do *pool* de amostras fecais dos três dias diferentes



5.3. Pré-processamento das amostras

Para a realização das técnicas coproparasitológicas desse estudo, foi necessário realizar uma etapa anterior ao processamento específico, constituída pela filtração da amostra.

Essa etapa consistiu na homogeneização e diluição de 6 g de fezes tanto individualizada quanto em *pool*, de forma separada, em 20 mL de água destilada (DAVID, 2013) com posterior filtração em gaze dobrada quatro vezes sobre tamiz. A suspensão filtrada foi transferida para proveta graduada para verificar o volume recuperado de amostra e foi aliqüotada para processamento específico de cada técnica. Como foram realizadas três técnicas, e a que possuía menor volume era a técnica de Ritchie modificado por Young *et al* (1979) padronizou-se o protocolo com 7 mL de filtrado da suspensão de material fecal para cada técnica. Caso o volume final recuperado após a filtração fosse inferior a 21 mL, o volume final foi ajustado com água destilado.

Para as técnicas de Ritchie e Faust *et al*. Foram transferidos 7 mL para dois tubos de fundo cônico tipo Falcon de 15 mL previamente identificados e para técnica de Lutz, 7 mL foi transferido para cálice de fundo cônico, sempre após homogeneização da amostra.

5.4. Técnica de Lutz (1919)

Consiste na sedimentação espontânea de formas evolutivas de parasitos intestinais, priorizando a detecção de formas evolutivas de maior densidade, tais como: ovos de média e grande densidade e larvas.

Depois da transferência de 7 mL da suspensão filtrada foi adicionada água destilada no próprio cálice de fundo cônico de 250 mL até mais ou menos 3 cm da borda. O cálice ficou 24h em descanso, para que por ação da gravidade houvesse a sedimentação de possíveis formas evolutivas de parasitos. Ao final desse tempo, foi coletado com pipeta tipo Pasteur primoutilizada descartável uma porção do sedimento e transferido uma gota para lâmina, sendo adicionada lamínula (24 x 32 mm) sobre a gota. O material foi encaminhado para leitura em microscópio óptico em aumento de 100X e confirmação quando necessária em aumento de 400X.

5.5. Técnica de Faust *et al*. (1938)

Essa técnica possui como fundamento a centrífugo-flutuação de formas evolutivas de parasitos pelo sulfato de zinco com densidade de 1.180 kg/m³, sendo

indicada para formas evolutivas de menor densidade como cistos de protozoários e ovos de médio peso ou leves de helmintos, como ovos de ancilostomídeos.

O sulfato de zinco tem maior densidade quando comparado ao meio com água destilada, dessa forma possibilita que formas evolutivas menos densas migrem para a superfície da solução, separando-os do sedimento.

Após transferência de 7 mL da solução filtrada para tubo de fundo cônico, foi acrescentado água destilada até completar volume de 15 mL. Este foi centrifugado a 2500 r.p.m. por um minuto, havendo formação de duas fases: um sobrenadante e um sedimento. O sobrenadante foi descartado e o sedimento suspenso em 15 mL de água destilada. Foram efetuadas novas centrifugações, descartes de sobrenadante e suspensões do sedimento em água destilada até que o sobrenadante se apresentasse relativamente transparente. Nesse caso, o sobrenadante foi novamente descartado e então, adicionou-se 7 mL de sulfato de zinco ao sedimento, sendo o material homogeneizado e centrifugado a 2500 r.p.m. por 1 minuto. O tubo foi retirado com cuidado da centrífuga e com auxílio de uma alça de platina foi coletada, com cuidado, a película de flutuação formada e transferida para lâmina. Esse processo se repetiu por quatro vezes. O material coletado foi coberto com lamínula (22 x 22 mm), e a lâmina levada ao microscópio óptico para leitura em aumento de 100X e confirmação quando necessária em aumento de 400X.

5.6. Técnica de Ritchie modificado por Young *et al.* (1979)

Esta é uma técnica que se baseia na centrifugo-sedimentação de formas evolutivas de parasitos, sendo indicada para ovos leves e pesados de helmintos e cistos de protozoários. Nesta técnica, o acetato de etila é utilizado para remover resíduos e gordura da suspensão fecal e facilitar a sedimentação de possíveis formas evolutivas parasitárias na parte inferior da suspensão, por ação de força centrífuga.

Após transferência de 7 mL da suspensão filtrada para tubo de fundo cônico, foi adicionado 3 mL de acetato de etila e uma gota de detergente Ypê© neutro. O material, foi centrifugado a 2.000 r.p.m. por dois minutos e em seguida o sobrenadante foi descartado, sendo o sedimento suspenso em 7 mL de água destilada. Realizou-se nova centrifugação a 2000 r.p.m. por dois minutos. Após descarte do sobrenadante, coletou-se pequena parte do sedimento do fundo do tubo com uma pipeta tipo Pasteur primoutilizada descartável, e transferiu-se uma gota para lâmina. Uma gota de água

destilada foi acrescentada, espalhada com a própria pipeta para melhor visualização. Adicionou-se uma lamínula (24 x 32 mm) sobre o material e, então, a lâmina foi levada ao microscópio óptico para leitura em aumento de 100X e confirmação quando necessária em aumento de 400X.

5.7. Considerações éticas

Esse é um subprojeto do projeto interinstitucional da Universidade Federal Fluminense e Fundação Municipal de Educação de Niterói intitulado “Parasitoses intestinais em escolares de Niterói, RJ: frequência, conhecimentos e profilaxia” que obteve parecer favorável em 22 de abril de 2014 no Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina/Hospital Universitário Antônio Pedro, possuindo registro de identificação no CEP, CMM/HUAP nº 621.193 e CAAE nº 25061913.0.0000.5243 (Anexo 1).

5.8. Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados de forma descritiva e a concordância entre os tipos de processamentos foram avaliados por meio do índice de concordância (Kappa). A análise da significância entre o uso de amostras individuais e em *pool* foi avaliada pelo teste Exato de Fisher, com intervalo de confiança de 5% utilizando o programa GraphPad QuickCalcs®.

Quadro 1 – Valores de referência para interpretação do valor de Kappa

K	CONCORDÂNCIA
< 0,00	Sem concordância
0,00 – 0,21	Fraca
0,21 – 0,41	Ligeiramente Fraca
0,41 – 0,61	Moderada
0,61 – 0,81	Substancial
0,81 – 1,00	Quase perfeita (excelente)

Fonte: Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33: 159-174

6. RESULTADOS

Dos 322 indivíduos convidados a participar, aderiram ao estudo 44 pessoas (14%), das quais 41 entregaram amostras fecais. Dessas amostras, foram inseridas nesse estudo 24 participantes (58,5%), baseado na quantidade suficiente de amostra fecal enviada.

Dos 24 indivíduos inseridos, nove coletaram duas amostras e 15 três amostras, totalizando 87 amostras, das quais, 63 amostras eram individuais e 24 em *pool*. Considerando o total de amostras e a realização de três técnicas parasitológicas distintas, realizou-se 261 análises, das quais 189 foram nas amostras individuais e 72, nas em *pool*. Das 87 amostras analisadas, 30 foram positivas para formas evolutivas de parasitos intestinais. Na Tabela 1 são apresentados os resultados de positividade por amostra individual e em *pool*.

Tabela 1 – Resultados obtidos pela análise de 63 amostras fecais individuais e 24 em *pool* por técnicas parasitológicas de fezes para pesquisa de parasitos intestinais em Niterói, RJ

Amostras	Análise Individual			<i>Pool</i>	Total
	Dia 1	Dia 2	Dia 3		
Positiva	8	6	7	9	30
Negativa	16	18	8	15	57
Total	24	24	15	24	87

Considerando as 30 amostras positivas para alguma forma evolutiva de parasito intestinal, os parasitos mais frequentes foram *Blastocystis* sp. e *Endolimax nana*, ambos diagnosticados em 13 amostras. As demais espécies parasitárias encontradas estão apresentadas na Tabela 2. Em 22 amostras encontrou-se apenas um parasito e em 8 encontrou-se associação de uma ou mais espécies.

Tabela 2 – Frequência de parasito por gênero/espécie obtidos da análise das 30 amostras positivas analisadas individualmente e em *pool* por técnicas parasitológicas em Niteroi, RJ

Parasito	Positivo
<i>Blastocystis</i> sp.	13 (43,3%)
<i>Endolimax nana</i>	13 (43,3%)
<i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i> / <i>E. hartmanni</i>	8 (26,7%)
<i>Giardia duodenalis</i>	7 (23,3%)
<i>Enterobius vermicularis</i>	1 (3,3%)

Dos 24 indivíduos participantes, 11 (45,8%) foram positivos para parasitos intestinais associando-se as duas formas de análise em *pool* e individual. Desses indivíduos, quatro realizaram coleta de dois dias e sete de três dias. A espécie de parasito mais frequente foi *Blastocystis* sp., encontrada em 7 (63,3%) indivíduos, seguida por *E. nana* em 5 (45,5%). Os resultados por parasito considerando os indivíduos positivos estão demonstrados na tabela 3.

Tabela 3 – Frequência de parasito por gênero/espécie obtidos da análise de 11 participantes positivos por técnicas parasitológicas em Niteroi, RJ

Parasito	Positivo
<i>Blastocystis</i> sp.	7 (63,6%)
<i>Endolimax nana</i>	5 (45,5%)
<i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i> / <i>E. hartmani</i>	3 (27,3%)
<i>Giardia duodenalis</i>	2 (18,2%)
<i>Enterobius vermicularis</i>	1 (9,1%)

A concordância entre a positividade obtida por pelo menos uma amostra individual e o *pool* ocorreu em nove amostras ($K= 0,80$; $P < 0,0001$), sendo considerada substancial. No entanto, quando foi analisada a associação entre as abordagens empregadas no presente estudo (análise individual vs. análise em *pool*), foi observado que não houve diferença estatística significativa entre as taxas de positivities ($P= 0,77$). Foi observado que quando as três ou duas amostras eram positivas individualmente, o *pool* foi positivo. Nos dois indivíduos em que o *pool* foi negativo, somente uma das amostras estava positiva, sendo observada nessas, presença de poucas formas evolutivas parasitárias de *Blastocystis* sp.

Quando comparado o uso de apenas uma amostra individual e o *pool*, a diferença não foi significativa ($P= 0,75$).

Nos 11 indivíduos positivos para parasitos intestinais, a análise de uma única amostra detectou o parasitismo em oito indivíduos. A segunda amostra individual detectou seis indivíduos positivos e a amostra do terceiro dia sete. Em um participante a positividade só foi evidenciada no segundo dia e em dois no terceiro dia, considerando amostras individuais. Em uma das amostras positivas no terceiro dia, o *pool* foi positivo.

Em dois indivíduos, onde o diagnóstico do *pool* concordou com o das amostras individuais quanto à positividade, houve discordância com relação às espécies parasitárias. Sendo detectado somente no *pool* de amostras em um indivíduo, presença de ovos de *Enterobius vermicularis* e cistos de *Endolimax nana* e em outro, forma vacuolar de *Blastocystis* sp. Em um terceiro indivíduo houve discordância entre as amostras individuais, tendo sido capaz de recuperar apenas no *pool* de amostras, todas as espécies parasitárias detectadas. Os resultados obtidos por espécie parasitária com relação às amostras individuais ou em *pool* estão demonstrados nas tabelas 4 e 5.

Tabela 4 – Resultado de positividade por gênero/espécie de parasito intestinal obtido por técnicas parasitológicas microscópicas em amostras individuais de três dias diferentes e em *pool* de amostras em Niteroi, RJ

Parasito	Dia 1	Dia 2	Dia 3	<i>Pool</i>
<i>Blastocystis</i> sp.	1	1	3	2
<i>Endolimax nana</i>	2	0	2	3
<i>E. histolytica/E. dispar/ E. hartmani</i>	2	0	1	2
<i>Giardia duodenalis</i>	1	1	1	1
<i>Enterobius vermicularis</i>	0	0	0	1

Tabela 5 - Resultado de positividade por gênero/espécie de parasito intestinal obtido por técnicas parasitológicas microscópicas em amostras individuais de dois dias diferentes e em *pool* de amostras em Niteroi, RJ

Parasito	Dia 1	Dia 2	<i>Pool</i>
<i>Blastocystis</i> sp.	1	3	2
<i>Endolimax nana</i>	2	2	2
<i>E. histolytica/E. dispar/ E. hartmani</i>	1	1	1
<i>Giardia duodenalis</i>	1	1	1

7. DISCUSSÃO

Foi verificado que grande parte dos indivíduos que aderiram ao estudo e entregaram amostras fecais coletaram pouca quantidade de material, apesar das orientações orais e escritas, o que resultou na inserção de 24 indivíduos. A literatura aponta a importância da coleta de pelo menos 50 mL de amostra fecal ou de fezes inteiras, possibilitando que o profissional responsável pelo diagnóstico possa escolher a porção mais provável de ter o diagnóstico positivo (KOONTZ & WEINSTOCK, 1996). Tal fato, fundamenta-se na dispersão heterogênea de formas evolutivas de parasitos intestinais nas fezes eliminadas pelo hospedeiro, associada à espécie parasitária (KOONTZ & WEINSTOCK, 1996, ARAÚJO *et al.*, 2003). A pouca quantidade de material fecal entregue interferiu na seleção de amostras, como também pode vir a influenciar na eficácia do diagnóstico. Torna-se essencial que os profissionais de saúde, que orientam a coleta de amostras como: enfermeiros, técnicos em enfermagem, técnicos em laboratório de análises clínicas, farmacêuticos e biomédicos orientem a correta coleta de amostras fecais minimizando erros no diagnóstico parasitológico por microscopia.

Outro fator complicador no diagnóstico parasitológico é a coleta de múltiplas amostras. Apesar de autores como Andrews (1934), Sawitz e Faust (1942), Hiatt *et al.* (1995) e Cartwright (1999) defenderem que a coleta de amostras múltiplas resulta em maior eficácia no diagnóstico, esse procedimento representa um fator limitante. Hira *et al.* (2004) relataram que o uso de amostra múltiplas nem sempre é solicitado pelo médico devido a ser inconveniente, demorar muito tempo para processamento e seu resultado não ter influência direta no tratamento, associado a relutância do paciente em realizar esse tipo de coleta, no caso de infecções por *Strongyloides stercoralis*. Observou-se no presente estudo que vários participantes entregaram duas amostras e que a não adesão ao estudo por outros pode ter sido associada a esse fato.

Além dessa questão, Siqueira (2016) sugeriu que a dificuldade no retorno das amostras fecais por estudantes e funcionários de escolas municipais de Niterói se baseou em aspectos culturais da sociedade, traduzidos pela resistência dos pais e estudantes em coletar amostras de fezes, por esse material ser percebido como sujo, causador de repulsa e vergonha. Esse fato também pode ter interferido no retorno de amostras, assim como na quantidade de amostra enviada para análise.

Peters *et al.* (1988) obtiveram positividade em 31 (25%) dos 123 indivíduos estudados, Aldeen *et al.* (1993) em 109/265 (41,13%) crianças e Wahlquist *et al.* (1995) em 35/267 (13,1%) crianças. Nesse estudo, considerando os indivíduos participantes, a positividade ocorreu em 11/24 (45,8%) e considerando as amostras individuais e em *pool* analisadas em 30/87 (34,5%). Essa maior frequência pode estar associada ou não ao pequeno número de amostras inseridas no estudo, uma vez que se considerarmos o número total de exames e não o de indivíduos, a frequência se reduziu.

O parasito mais frequente, entre os participantes, foi *Blastocystis* sp. Alguns estudos vêm apontando aumento na frequência desse protozoário, tendo o mesmo se tornado o mais comum nos inquéritos coproparasitológicos (NETO *et al.*, 2004, DEVERA *et al.*, 2009, MACEDO *et al.*, 2010, SANTOS *et al.* 2014, LEITE *et al.*, 2014). No caso do resultado obtido das amostras individuais, houve frequência similar de *Blastocystis* sp. e *E. nana*, fato justificado pela análise de amostras de dias diferentes do mesmo participante, o que determinou aumento da frequência de *E. nana*.

No presente estudo, houve casos de discordância entre os resultados por gênero/espécie entre as amostras individuais de dias diferentes. Essa situação pode estar relacionada à liberação intermitente de formas evolutivas por alguns parasitos intestinais, como relatado nos estudos de Tsuchiya (1931) para *Giardia duodenalis* e de Vennila (1999) para *Blastocystis* sp.

O número de indivíduos com infecções causadas por protozoários foi superior ao de helmintos, como também tem sido demonstrado em outros estudos (BRANDA *et al.*, 2006, LIBMAN *et al.*, 2008, BELO *et al.*, 2012, SANTOS *et al.*, 2014, SIQUEIRA, 2016). Esse fato tem sido relacionado à transmissão direta dos protozoários intestinais pessoa a pessoa e ao uso indiscriminado de anti-helmínticos (BETHONY *et al.*, 2006, PEREIRA *et al.*, 2011, BELO *et al.*, 2012), além da ação antrópica sobre o ambiente modificando as condições naturais e dificultando a manutenção de geo-helmintos.

O monoparasitismo foi mais frequente entre as amostras positivas, fato também evidenciado por alguns autores em estudos parasitológicos em amostras fecais por microscopia (UCHÔA *et al.*, 2009, BAPTISTA *et al.*, 2013), embora Belo *et al.* (2012) tenha observado maior frequência de poliparasitismo. O monoparasitismo pode estar associado à maior dispersão das espécies de parasitos no ambiente onde essas pessoas vivem, o que favoreceria a menor exposição à diversidade de espécies, e

também podendo ser reflexo de tratamentos periódicos e condições sanitárias mais adequadas.

A concordância da análise de amostras em *pool* e de amostras individuais mostrou-se segundo a classificação de Landis e Koch (1997) como substancial. O que indica que houve concordância de resultados positivos em 80% das amostras. Essa concordância foi confirmada pela análise estatística. Resultados similares foram obtidos por Peters *et al.* (1988), Wahlquist *et al.* (1991), Aldeen *et al.* (1993) e Libman *et al.* (2008). A análise de amostras em *pool*, como já apontado pelos autores anteriormente apresentados, representa economia de tempo e de custo na rotina laboratorial.

Entretanto, a diferença estatística entre o uso de amostras individuais e em *pool* não foi significativa, embora numericamente o uso de amostras individuais em conjunto tenha garantido maior eficácia no diagnóstico para obtenção de resultados positivos, porém implica em maior custo e tempo. De forma similar, quando se compara o *pool* com a análise de apenas uma amostra individual, não houve diferença estatística significativa ($P=0,75$), indicando que estatisticamente no grupo de amostras analisadas não há diferença entre o uso de uma única amostra fecal ou do *pool* de amostras. Cabe ressaltar, que o *pool* obteve, em número absoluto, um maior número de amostras positivas, o que o torna uma estratégia mais interessante do que amostra única. A diferença de resultado obtido em números absolutos representou diagnóstico positivo em maior número de indivíduos, que em casos de parasitos patogênicos torna-se importante na prevenção de doença e transmissão.

Branda *et al.* (2006) propõem que em procedimentos envolvendo múltiplas amostras, para redução de tempo e custo, deve-se analisar uma única amostra. Quando o resultado dessa amostra individual for negativo e os sintomas persistirem, deve-se analisar a segunda e/ou terceira amostra. Wahlquist *et al.* (1991) propuseram que em caso de *pool* negativo e suspeita clínica de infecção por *Giardia duodenalis*, deve-se fazer análise de amostras individuais de dias diferentes. Da mesma forma, sugere-se nesse estudo, que em casos de *pool* negativo em pacientes sintomáticos, seja realizado a repetição do exame nas amostras individualizadas para minimizar o efeito de diluição de formas evolutivas de parasitos determinado pelo *pool* de amostras fecais.

Nesse estudo, foi observado que quando apenas uma das amostras individuais era positiva, *pool* de amostras apresentou resultado negativo. Quando duas ou mais

amostras eram positivas, *pool* de amostras também foi positivo, o que concorda com os resultados obtidos por Wahlquist *et al.* (1991). Torna-se, dessa forma, importante que no laboratório de análises clínicas, quando forem processadas amostras em *pool*, que o responsável técnico guarde parte das amostras individualizadas para repetição, caso necessário, evitando o degaste de nova coleta pelo paciente.

Considerando a proposta de Morris *et al.* (1992) de análise de uma única amostra fecal. Nesse estudo, o exame individual de uma única amostra determinou positividade de 72,7% (8/11) dos indivíduos positivos. Esse resultado foi similar ao obtido por Cartwright (1999) que obteve com uma única amostra individual, eficácia em 75,9% dos resultados e diferiram dos relatados por Morris *et al.* (1992) que obtiveram 93,3% de eficácia e Senay e Macpherson (1989) que alcançaram 93,5%. A adição de uma segunda análise determinou positividade em 9/11 (81, 8%) indivíduos, sendo similar ao obtido pelo *pool*. Apesar desse aumento de eficiência, os resultados obtidos foram inferiores aos obtidos por Cartwright (1999). A maior eficiência foi atingida pelo uso de três amostras de dias diferentes. Considerando o trabalho e custo de processamento de duas amostras individuais, o *pool* demonstrou ser a estratégia mais adequada.

A diferença de diversidade de espécies em amostras em *pool* quando comparadas com amostras individualizadas também foi observada por Peters *et al.* (1988), porém de forma contrária ao observado nesse estudo. No estudo de Peters *et al.* (1988), os autores observaram menor diversidade no *pool*, associado a poucas formas evolutivas de parasitos intestinais nas amostras. Nesse estudo, o *pool* de amostras permitiu o diagnóstico de maior diversidade parasitária do que as amostras individuais. Tal fato pode ter sido devido ao fracionamento aleatório da amostra no momento de porcionamento das alíquotas, apesar das amostras terem sido homogenizadas.

Assim como no estudo de Santos *et al.* (2014) houve um predomínio de protozoários, sendo diagnosticada apenas uma amostra com ovos de *Enterobius vermicularis*. As técnicas parasitológicas utilizadas nesse estudo apresentam pouca sensibilidade para detecção dessa espécie de parasito, sendo o mesmo encontrado esporadicamente.

Os resultados obtidos, apesar do pequeno número de indivíduos inseridos no estudo, em função da quantidade enviada ao laboratório, possibilita inferir que o uso de *pool* em análises de amostras múltiplas representa uma estratégia eficaz no

diagnóstico parasitológico por microscopia. Essa estratégia reduz o tempo de processamento de amostras resultando em menor custo com funcionário e infraestrutura, bem como a redução de gastos com bens de consumo e bens permanentes no laboratório de análises clínicas, gerando um resultado tão eficaz e confiável que a análise de amostra única.

8. CONCLUSÃO

Foi observado variação de frequência de parasitos intestinais em amostras de dias diferentes, havendo também variação na diversidade de espécies diagnosticadas e eficácia no diagnóstico, considerando o número absoluto de indivíduos positivos.

Obteve-se menor frequência parasitária nas amostras em *pool* e maior diversidade parasitária.

A utilização de amostras de três dias diferentes permitiu maior eficácia no diagnóstico parasitológico por microscopia, considerando o número absoluto de indivíduos positivos.

O *pool* de amostras fecais representa uma estratégia eficaz para a análise de amostras fecais múltiplas

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALDEEN, W.E., WHISENANT, J., HALE, D., MATSEN, J. e CARROLL, K. Comparison of Pooled Formalin-Preserved Fecal Specimens with Three Individual Samples for Detection of Intestinal Parasites. **Journal of Clinical Microbiology**, vol. 31, n. 1, p. 144-145, 1993.
- AMAYA, A.M., TREJOS, J e MORALES, E. *Blastocystis spp.*: revisión literaria de um parasito intestinal altamente prevalente **Revista de la Universidad Industrial de Santander**, v.47, n.2, 2015.
- ANDRADE, E.C., LEITE, I.C.G., RODRIGUES, V.O. e CESCO, M.G. Parasitoses intestinais: uma revisão sobre seus aspectos sociais, epidemiológicos, clínicos e terapêuticos. **Rev. APS**, Juiz de Fora, v. 13, n. 2, p. 231-240, 2010
- ANDREWS, J. The Diagnosis of Intestinal Protozoa from Purged and Normally-Passed Stools. **The Journal of Parasitology**, vol. 20, n. 4, p. 253-254, 1934.
- ARAUJO, A.J.U.S., KANAMURA, H.Y., DIAS, L.C.S., GOMES, J.F. e ARAÚJO, S.M. Coprotest® quantitativo: quantificação de ovos de helmintos em amostras fecais utilizando-se sistema de diagnóstico comercial. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 2, p. 115-124, 2003.
- AULT, STEVEN K. Intersectoral approaches to neglected diseases. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1136, n. 1, p. 64-69, 2008.
- BAPTISTA, A.B., RAMOS, L.S. e SANTOS, H.A.G. Prevalência de enteroparasitoses e aspectos epidemiológicos de crianças e jovens no município de Altamira-PA. **Rev. Pesq. Saúde**, v. 14, p. 77-80, 2013.
- BASSO, R.M.C., SILVA-RIBEIRO, R.T., SOLIGO, D.S., RIBACKI, S.I., CALLEGARI-JACQUES, S.M. e ZOPPAS, B.C.A. Evolução da prevalência de parasitoses intestinais em escolares em Caxias do Sul, RS. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.41, n.3, p.263-268, 2008.
- BELO, V.S., OLIVEIRA, R.B.D., FERNANDES, P.C., NASCIMENTO, B.W.L., FERNANDES, F.V., CASTRO, C.L.F., SANTOS, W.B.D. e SILVA, E.S.D. Fatores associados à ocorrência de parasitoses intestinais em uma população de crianças e adolescentes. **Rev Paul Pediatr**, v.30, n.2, 195-201, 2012.
- BETHONY, J., BROOKER, S., ALBONICO, M., GEIGER, S.M., LOUKAS, A., DIEMERT, D. e HOTEZ, P.J. Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. **The Lancet**, v.367, n. 9521, p. 1521-1532, 2006.
- BRANDA, J.A., LIN, T.D., ROSENBERG, E.S., HALPERN, E.F. e FERRARO, M.J. A Rational Approach to the Stool Ova and Parasite Examination. **Clinical Infectious Disease**, v.42, p.972-978, 2006.
- BRASIL. Ministério das Cidades. **Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental – SNSA**. Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos – 2014. Brasília: SNSA/MCIDADES, 2016.
- CANTUÁRIA, F.D., COCCO, J., BENTO, R.R.L., e RIBEIRO, F. Avaliação de parasitoses intestinais em escolares do ensino fundamental no município de Coração de Jesus em Minas Gerais, Brasil. **Rev Bras Anal Clin**, v.43, n.4, p.277-83, 2011.

- CARTWRIGHT, C.P. Utility of multiple-stool-specimen ova and parasite examinations in a high-prevalence setting. **J. Clin. Microbiol.**, v. 37, n. 8, p. 2408-2411, 1999.
- CASTILHO, V.L.P., GUIZELINI, E., TURRL, E..S., CAMPOS, R., AMATO-NETO, V., MOREIRA, A.A.B. e PINTO, P.L.S. Exame parasitológico quantitativo das fezes: estudo comparativo entre os métodos de McMaster, Stoll-Hausheer e Kato-Katz. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.17, p209-212, 1984.
- CHEREM, J.H., GOMEZ, M.T.T., LAWRENZ, J.C., SANCHEZ, F.L., GUINZBERG, A.L. e FLISSER, A. Una aproximación a la reevaluación de los exámenes coproparasitológicos. **Gac. Med. Mex.**, v. 128, n. 2, p.134-137, 1992.
- CHERTER, L., CABEÇA, M. e CATAPANI, W.R. Parasitoses intestinais. **Revista Brasileira de Medicina**, v.51, p.126-132, 1995.
- CHIEFFI, P.P. e AMATO NETO, V. Vermes, verminoses e a saúde pública. **Cienc. Cult.**, São Paulo, v. 55, n. 1, Jan.2003.
- CLINE, B.L., HABIB, M., GAMIL, F., ABDEL-AZIZ, F. e LITTLE, M.D. Quality Control for Parasitologic Data. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.62, Suppl.2, p. 14-16 2000.
- CORRIPIO, I.F., CISNEROS, M.J.G. e ORMAECHEA, T.G. Diagnóstico de las parasitoses intestinales mediante detección de coproantígenos. **Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.**, v.28, supl.1, p.33-39, 2010.
- CUNHA, G. M., MORAES, L. R. S., LIMA, A. G. D., DA SILVEIRA, P. S. D. M., FREDIANI, D. A. Prevalência da infecção por enteroparasitas e sua relação com as condições socioeconômicas e ambientais em comunidades extrativistas do município de Cairu-Bahia. **REEC-Revista Eletrônica de Engenharia Civil**, v.7, n.2, p.27-36, 2013.
- DANTAS, A.M.P. e FERREIRA, LF. Sobre o método de kato, no diagnóstico da esquistossomose mansoni. **Rsv. Soc. Bras. Med. Trop.**, vol. 7, n. 3, p. 209-212, 1973.
- DAVID, T.G., MACEDO, L.C., SÁ, F. M.P.D., SILVA JÚNIOR, N.P.D. Prevalência de enteroparasitos no município de Ariquemes, Rondônia, Brasil. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**, v. 4, n. 2, p. 39-48, 2013.
- DE CARLI, G.A. Parasitologia clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas. São Paulo, **Atheneu**, v. 809, 2001.
- DEVERA, R. A., NIEBLA PUNOS, G., VELÁSQUEZ, V.J., CATANESE, N., ANTONIO, J. e GONZÁLEZ MENESES, R. Prevalencia de infección por *Blastocystis hominis* en escolares de Ciudad Bolívar, Venezuela. **Bol. chil. Parasitol.**, v.52, n.3/4, p.77-81, 1997.
- FALEIROS, J.M.M., GALLO, G., SILVA, M.M.K., RAFUL, R., NASORRI, A.R., PIPINO, L.F.R., JUNQUEIRA, R.B. e PINTO, P.L.S. Ocorrência de enteroparasitoses em alunos da escola pública de ensino fundamental do município de Catanduva (São Paulo, Brasil). **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.63, n.2, p.243-247, 2004.
- FAUST, E.C., D'ANTONI, J.S., ODON, V., MILLER, M.J., PEREZ, C., SAWITZ, W., THOMEN, L.F., TOBIE, J. e WALKER, J.H. A critical study of clinical laboratory technics of the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces.I - Preliminary communication. **Am. J. Trop. Med.**, v.18, p.169-183, 1938.
- FERNANDES, S., BEORLEGUI, M., BRITO, M.J. e ROCHA, G. Protocolo de parasitoses intestinais. **Acta Pediatr. Port.**, v. 43, n.1, p.34-40, 2012.

- FERREIRA, L.F. O fenômeno parasitismo. **Rsv. Soc. Bras.Med. Trop.**, v.7, n.4, p.261-277, 1973.
- FLETCHER, S.M., STARK, D., HARKNESS, J. e ELLIS, J. Enteric Protozoa in the Developed World: a Public Health Perspective. **Clinical microbiology reviews**, v.25, n.3, p.420-449, 2012.
- GONÇALVES, A.Q., ABELLANA, R., PEREIRA-DA-SILVA, H.D., SERRA, P.T., JULIÃO, G.R., ORLANDI, P.P. e ASCASO, C. Comparison of the performance of two spontaneous sedimentation techniques for the diagnosis of human intestinal parasites in the absence of a gold standard. **ActaTropica**, v.131, p.63-70, 2014.
- HALL, A. Intestinal helminths of man: the interpretation of egg counts. **Parasitology**, v.85, p.605-613, 1982.
- HARHAY, M.O., HORTON, J., OLLIARO, P.L. e UTZINGER, J. Diagnostics are central for a truly holistic approach against intestinal parasitic diseases. **International Journal of Infectious Diseases**, v.15, p.e76–e77, 2011.
- HIATT, R.A., MARKELL, E.K. e NG, ANDERNEST. How many stool examinations are necessary to detect pathogenic intestinal protozoa?. **Am. J. Trop. Mtd. Hyg.**, v.53, n.1, p. 36-39, 1995.
- HIRA, P.R.; AL-ALI, F.; SHWEIKI, H.M.; ABDELLA, N.A.; JOHNY, M.; FRANCIS, I.; IQBAL, J.; THOMPSON, R. e NEVA, F. Strongyloidiasis: challenges in diagnosis and management in non-endemic Kuwait. **Ann Trop Med Parasitol**, v.98, p.261-270, 2004.
- HOVE, R.J., VERWEIJ, J.J. VEREECKEN, K., POLMAN, K., DIEYE, L. e LIESHOUT, L.V. Multiplex real-time PCR for the detection and quantification of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* infection in stool samples collected in northern Senegal. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.102, p.179-185, 2008.
- KOONTZ, F. e WEINSTOCK, J.V. The approach to stool examination for parasites. **Gastroenterology Clinics of North America**, v.25, n.3, p.435-449, 1996.
- KURE, A., MEKONNEN, Z., DANA, D., BAJIRO, M., AYANA, M., VERCRUYSSSE, J. e LEVECKE, B. Comparison of individual and pooled stool samples for the assessment of intensity of *Schistosoma mansoni* and soil-transmitted helminth infections using the Kato-Katz technique. **Parasites & vectors**, v.8, n.1, 2015.
- LANDIS, J. R., & KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. **International Biometrics Society**, v.33, n.1, p.159-174, 1977.
- LIBMAN, M.D., GYORKOS, T.W., KOKOSKIN, E. e MACLEAN, J.D. Detection of Pathogenic Protozoa in the Diagnosis Laboratory: Result Reproducibility, Specimen Pooling and Competency Assessment. **Journal of Clinical Microbiology**, v.46, n.7, p. 2200-2205, 2008.
- LEITE, R.O., TOMA H.K. e ADAMI, Y.L. Diagnóstico parasitológico e molecular de enteroparasitos entre crianças residentes e funcionários de uma instituição beneficente para menores no município de Niterói-RJ, Brasil. **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 43, n. 4, p. 446-458, 2014.
- LLEWELLYN, S., INPANKAEW, T., NERY, S.V., GRAY, D.J., VERWEIJ, J.J., CLEMENTS, A.C.A., GOMES, S.J., TRAUB, R. e MCCARTHY, J.S. Application of a

Multiplex Quantitative PCR to Assess Prevalence and Intensity of Intestinal Parasite Infections in a Controlled Clinical Trial. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.10, n.1, p.1-19, 2016

LUDWIG, K.M., FREI, F., FILHO, F.A. e RIBEIRO-PAES, J.T. Correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses intestinais na população de Assis, Estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.32, n.5, p.547-555, 1999.

LUTZ, A. *Schistosomum mansoni* and Schistosomiasis observed in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.11, n.1, p.121-155, 1919.

MACEDO, H. W.; GONÇALVES, A. M. H.; DE ALMEIDA, C. B.; DIAS, L. V. B.; MUNIZ, M. F. Infecção por *Blastocystis hominis* e *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* em pacientes atendidos em um hospital localizado em Niterói, Rio de Janeiro. **Revista de Patologia Tropical**, v. 39, n. 1, p. 56-62, 2010.

MACHADO, R.L.D., FIGUEIREDO, M.C., FRADE, A.F., KUDÓ, M.E., FILHO, M.G.S. e PÓVOA, M.M. Comparação de quatro métodos laboratoriais para diagnóstico da *Giardia lamblia* em fezes de crianças residentes em Belém, Pará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.34, n.1, p. 91-93, 2001.

MAGALHÃES, T.R., COELHO, M.D.G., ARAÚJO, A.J.U.S., COELHO, F.A.S. Influência de fatores socioambientais na ocorrência de enteroparasitos e protozoários comensais em área periférica do município de Cristina, Minas Gerais. **Revista Biociências**, v. 19, n. 2, 2013.

MASCIE-TAYLOR, C.G.N., ALAM, M., MONTANARI, R.M., KARIM, R., AHMED, T. e AKHTAR, T. A study of the cost effectiveness of selective health interventions for the control of intestinal parasites in rural Bangladesh. **J. Parasit.**, v. 85, n. 11, p. 6-11, 1999.

McHARDY, I.H., WU, M., SHIMIZU-COHEN, R., COUTURIER, M.R. e HUMPHRIES, R.M.. Detection of Intestinal Protozoa in the Clinical Laboratory. **Journal of Clinical Microbiology**, v.52, n.3, p. 712–720, 2014.

MEJIA, R., VICUÑA, Y. BRONCANO, N., SANDOVAL, C., VACA, M., CHICO, M., COOPER, P.J. e NUTMAN, T.B. A Novel, Multi-Parallel, Real-Time Polymerase Chain Reaction Approach for Eight Gastrointestinal Parasites Provides Improved Diagnostic Capabilities to Resource-Limited At-Risk Populations. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.88, n.6, p. 1041–1047, 2013.

MEKONNEN, Z., MEKA, S., AYANA, M., BOGERS, J., VERCRUYSSSE, J. e LEVECKE, B. Comparison of individual and pooled stool samples for the assessment of soil-transmitted helminth infection intensity and drug efficacy. **PLoS Negl Trop Dis**, v.7, n.5, 2013.

MELO M.C.B., KLEM V.G.Q., MOTA J.A.C. e PENNA F.J. Parasitoses intestinais. **Rev. Med. Minas Gerais**, v. 14, n. 1 (Supl1), p. 3-12. 2004

MENDES, C.R., TEIXEIRA, A.T.L.S., PEREIRA, R.A.T. e DIAS, L.C.S. Estudo comparativo de técnicas parasitológicas: Kato-Katz e coprotest®. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n.2, p.178-180, 2005.

MENEZES, R.A.O., GOMES, M.S.M., BARBOSA, F.H.F., MACHADO, R.L.D., ANDRADE, R.F. e COUTO, A.A.R.D. Sensibilidade de Métodos Parasitológicos para

o Diagnóstico das Enteroparasitoses em Macapá - Amapá, Brasil. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Amapá, v. 13, n. 2, p.66-73, 2013.

MONTRESOR A., CROMPTON D.W.T., GYORKOS T.W. e SAVIOLI L. Helminth control in school-age children: a guide for managers of control programmes. **World Health Organization**, Geneva, 2002.

MORRIS, A.J., WILSON, M.L. e RELLER, L.B. Application of Rejection Criteria for Stool Ovum and Parasite Examinations. **Journal of Clinical Microbiology**, v.30, n.12, p. 3213-3216, 1992.

MOURA, E.C., BRAGAZZA, L.M., COELHO, M.F.L. e AUN, S.M.F. Prevalência de parasitose intestinal em escolares da primeira série de uma escola pública. **Jornal de Pediatria**, v.73, n.6, p. 406-410. 1997

NAVONE, G.T., GAMBOA, M.I., KOZUBSKY, L.E., COSTAS, M.E., CARDOZO, M.S., SISLIAUSKAS, M.N. e GONZALEZ, M. Estudio comparativo de recuperación de formas parasitarias por tres diferentes métodos de enriquecimiento coproparasitológico. **Parasitol. latinoam.**, Santiago, v. 60, n. 3-4, p. 178-181, 2005.

NETO, V. A., ALARCÓN, R. S. R., GAKIYA, E., FERREIRA, S. C., BEZERRA, R. C. e SANTOS, A. G. Elevada porcentagem de blastocistose em escolares de São Paulo, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n. 4, p. 354-356, 2004.

ORIHIEL, T.C.; ASH, L.R.; RAMACHANDRAN, C.P. e OTTESEN, E. Medios Auxiliares para el Diagnóstico de las Parasitosis Intestinales. **Organización Mundial de la Salud**, Gevenva, 1997.

PACHECO, F.T.F., SILVA, R.K.N.R., MENDES, A.V.A., MENDONÇA, N., RIBEIRO, T.C.M., SOARES, N.M., e TEIXEIRA, M.C.A. Infecção por *Giardia duodenalis* e outros enteroparasitos em crianças com câncer e crianças de creche em Salvador, Bahia. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 13, n. 3, p. 280-286, 2014.

PARIJA, S.C.P. e JEREMIAH, S.S. *Blastocystis*: Taxonomy, biology and virulence. **Trop. Parasitol.**, v.3, n.1, p. 17-25, 2013.

PEREIRA, M. F., COELHO, F.A.S., MARSON, F.G., CAPUANO, D.M. e KANAMURA, H.Y. Ocorrência de enteroparasitos e comensais em crianças do ensino fundamental no município de Pindamonhangaba, SP, Brasil. **Revista Biociências**, v.17, n.1, p.40-49, 2011.

PEREIRA, I.G.S., RODRIGUES, C.S., GURGEL-GONÇALVES, R. e MACHADO, E.R. Frequency of intestinal parasites and commensals in street waste pickers from two cooperatives in the Brazilian federal district. **Rev. Patol. Trop. Vol.**, v. 44, n. 4, p. 432-440, 2015.

PETERS, C.S., HERNANDEZ, L., SHEFFIELD, N., CHITOM-SWIATLO, A.L. e KOCKA, F.E. Cost Containment of Formalin-Preserved Stool Specimens for Ova and Parasites from Outpatients. **Journal Of Clinical Microbiology**, v. 26, n. 8, p.1584-1585, 1988.

PNUD BRASIL. **United Nations Development Programme: Human Development Report 2000**, New York, 2000.

QVARNSTROM, Y., JAMES, C., XAYAVONG, M., HOLLOWAY, B.P., VISVESVARA, G.S., SRIRAM, R. e SILVA, A.J. Comparison of Real-Time PCR Protocols for Differential Laboratory Diagnosis of Amebiasis. **Journal of clinical microbiology**, v.43, n.11, p. 5491–5497, 2005.

ROBERTS, T., STARK, D., HARKNESS e ELLIS, J. Update on the pathogenic potential and treatment options for *Blastocystis* sp. **Gut Pathogens**, v.6, n.17, 2014.

RITCHIE, L.S. An ether sedimentation technique for routine stool examination. **Bull. U.S. Army Med. Dept.**, v.8, p.326, 1948.

SANTO, M.E.S, OGANDO, T., FONSECA, B.P.V., JUNIOR, C.E.G. e BARÇANTE, J.M.P. Ocorrência de enteroparasitos em crianças atendidas no programa de saúde da família de uma área de abrangência do município de Vespasiano, Minas Gerais, Brasil. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, Goiânia, v. 8, n. 1, p. 25-29. 2006.

SANTOS, J., DUARTE, A.R.M., GADOTTI, G. e LIMA, L.M. Parasitoses intestinais em crianças de creche comunitária em Florianópolis – SC, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v.43, n.3, p. 332-340, 2014.

SAWITZ, W. G. e FAUST, E.C. The probability of detecting intestinal protozoa by successive stool examinations. **American Journal of Tropical Medicine**, v.22, n.2, p.131-136, 1942.

SCHNACK F.J., FONTANA, L.M., BARBOSA, P.R., SILVA, L.S.M., BAILLARGEON, C.M.M., BARICHELLO, T., PÓVOA, M.M., CAVASINI, C.E. e MACHADO, R.L.D. Enteropatógenos associados com diarreia infantil (< 5 anos de idade) em amostra da população da área metropolitana de Criciúma, Santa Catarina, Brasil. **Cad SaudePublica**, v. 19, n. 4, p. 1205-1208, 2003

SENAY, H. e MACPHERSON, D. Parasitology: diagnostic yield of stool examination. **Canadian Medical Association Journal**, v. 140, n.11, p. 1329-1331, 1989.

SILVA, A.O., CUNHA, C.R.M., MARTINS, W.L.L., SILVA, L.S.S., SILVA, G.R.C. E FERNANDES, C. K. C. Epidemiologia e prevenção de parasitoses intestinais em crianças das creches municipais de Itapuranga – GO. **Revista Faculdade Montes Belos (FMB)**, v. 8, n. 1, p. 1-17, 2015.

SINGH, B. Molecular methods for diagnosis and epidemiological studies of parasitic infections. **International Journal for Parasitology**, v.27, n.10, p. 1135-1145, 1997.

SIQUEIRA, MP. **Parasitoses intestinais em escolares de Niterói, RJ: frequência, conhecimentos e educação em saúde**, 2016. 124f. Dissertação (Programa de Pós Graduação em Microbiologia e Parasitologia Aplicadas), Instituto Biomédico, UFF, Niteroi, 2016.

STEPHENSON, L.S., LATHAM, M.C. e OTTESEN, E.A. Malnutrition and parasitic helminth infections. **Parasitology**, v.121, p.S23-S38, 2000.

STEKETEE, R.W. Pregnancy, nutrition and parasitic diseases. **J Nutr**, v. 133, p. 1661–1667, 2003.

TAN, K.S.W. New Insights on Classification, Identification, and Clinical Relevance of *Blastocystis* spp. **Clinical microbiology reviews**, v.21, n.4, p. 639–665, 2008.

TARAFDER, M.R., CARABIN, H., JOSEPH, L, BALOLONG JUNIOR, E., OLVEDA, R. e McGARVEY, S.T. Estimating the sensitivity and specificity of Kato-Katz stool

examination technique for detection of hookworms, *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* infections in humans in the absence of a 'gold standard'. **International Journal for Parasitology**, v. 40, p. 399-404, 2010.

TEIXEIRA, J.C. e HELLER, L. Fatores ambientais associados às helmintoses intestinais em áreas de assentamento subnormal, Juiz de Fora, MG. **Eng. Sanit. Ambient.**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 4, p. 301-305, Dec. 2004.

TIBIRIÇÁ, S.H.C., ABRAMO, C., SIMÕES, A.S., PINHEIRO, I.O., RIBEIRO, L.C. e COIMBRA, E.S. Validação do número de lâminas para realização do método de sedimentação espontânea das fezes. **Hu Revista**, Juiz de Fora, v. 35, n. 2, p.105-110, abr./jun. 2009.

TSUCHIYA, H. A study on variabilities in dimensions and numbers of discharged cysts of *Giardia lamblia* (Stiles, 1915) from day to day under normal conditions. **American Journal of Epidemiology**, v. 13, n. 2, p. 544-567, 1931.

UCHÔA, C.M.A., CARVALHO, F.M., FALCÃO, A.O., SILVA, P. e BASTOS, O.M.P. Parasitismo intestinal em crianças e funcionários de creches comunitárias na cidade de Niterói-RJ, Brasil. **Revista de patologia tropical**, Vol. 38, n.4, p. 267-278, 2009.

UECKER, M., COPETTI, C.E., POLEZE, L., e FLORES, V. Infecções parasitárias: diagnóstico imunológico de enteroparasitoses. **RBAC**, v.39, n.1, p. 15-9, 2007.

VALENCIA, J.I.Z., ROJAS-CRUZ, C. Una actualización sobre *Blastocystis* sp. **Revista Gastrohnp**, v.14, n.3, p.94-100, 2012.

VENILLA, G.D., KUMAR, G.S., ANUAR, A.K., RAJAH, S., SAMINATHAN, R., SIVANANDAN, S. E RAMAKRISHNAN, K. Irregular shedding of *Blastocystis hominis*. **Parasitology research**, v.85, n.2, p.162-164, 1999.

WAHLQUIST, S. P., WILLIAMS, R.M., BISHOP, H., ADDISS, D.G., STEWART, M., FINTON, R.J., JURANEK, D.D. e SULLIVAN, J.J. Use of Pooled Formalin-Preserved Fecal Specimens to Detect *Giardia lamblia*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 29, n. 8, p.1725-1726, 1991.

WALDMAN, E.A. e CHIEFFI, P.P. Enteroparasitoses no Estado de São Paulo: questão de saúde pública. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**; v. 49, n.1, p. 93-99, 1989.

WHO- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Progress on Sanitation and Drinking Water – 2015 update and MDG assessment**, 2015.

WBG - WORLD BANK GROUP. **Global Poverty Working Group**. Disponível em: <<http://databank.worldbank.org/data/reports.aspx?source=world-development-indicators>> Acesso em: 13 jun. 2016

YOUNG, H.K., BULLOCK, S.L., MELVIN, D.M. e SPRUILL, C.L. Ethyl acetate as a substitute for diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique. **J. Clin. Microbiol.**, v.10, p.852-853, 1979.

ZAIDEN, M.F., SANTOS, B.M.O., CANO, M.A.T., NASCIF JÚNIOR, I.A.. Epidemiologia das parasitoses intestinais em crianças de creches de Rio Verde - GO. **Medicina**, Ribeirão Preto, v.41, n. 2, p. 182-187, 2008.

APÊNDICES

Apêndice 1- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
PAIS E/OU RESPONSÁVEIS

Projeto: Parasitoses Intestinais em escolares de Niterói, RJ: frequência, conhecimentos e profilaxia.
 Responsável: Clauda Maria Antunes Uchôa Souto Maior
 Endereço: Disciplina de Parasitologia/UFF Rua Prof Hernani de Melo, 101 – 2 andar. São Domingos
 Niterói, RJ, Cep 24210-130. tel (21) 26292426
 Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal Fluminense

Nome da Instituição: _____
 Endereço: _____
 Nome do Participante: _____ Idade: _____
 RG: nº _____ Órgão Emissor: _____
 Nome do Responsável: _____ Idade: _____
 Endereço: _____
 RG: nº _____ Órgão Emissor: _____

O(A) Sr. (ª) está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa "Parasitoses Intestinais em escolares de Niterói, RJ: frequência, conhecimentos e profilaxia", de responsabilidade da pesquisadora Clauda Maria Antunes Uchôa Souto Maior.

Declaro ter pleno conhecimento que:

- O projeto tem como objetivo: conhecer a prevalência dos parasitos intestinais nos escolares e funcionários das escolas, identificar saberes dos escolares, funcionários e responsáveis sobre as parasitoses e desenvolver ações educativas em saúde junto à população alvo.
- Será solicitada a coleta de amostras fecais pelo participante e de coleta de material debaixo da unha pela equipe, para o diagnóstico dos parasitos; preenchimento de questionário em papel e participação nas oficinas. Será realizado o registro da situação por fotografia e filmagem de situações que serão utilizadas apenas no contexto do projeto, sem divulgar nomes.
- Autorizo a participação acima qualificada no presente projeto de pesquisa;
- Este estudo não fará nenhum mal a minha saúde ou de crianças dessa instituição;
- Esta pesquisa tem por objetivos conhecer a prevalência de parasitoses Intestinais, identificar saberes circulantes sobre parasitoses e desenvolver ações em educação e saúde com estudantes e funcionários desta instituição;
- Os benefícios esperados serão o resultado de exames coproparasitológicos/subungueal e o esclarecimento dos funcionários, crianças e pais e/ou responsáveis sobre parasitos que atingem crianças, objetivando conscientizá-los quanto ao que causam e como evitá-los;
- Autorizo a realização de exames coproparasitológicos em fezes e material subungueal, preenchimento de questionários, gravação de entrevistas, falas e imagens, necessárias para a coleta de informações/dados para realização do estudo, as quais só poderão ser utilizadas no contexto do projeto ou em artigos relacionados ao mesmo.
- Não gastarei nada para participar dessa pesquisa;
- As amostras fecais e de material sub-ungueal serão descartadas após o processamento;
- Terei a liberdade de retirar meu consentimento e deixar de participar do estudo a qualquer momento;
- Nenhum nome será divulgado durante as etapas desse estudo ou ao seu término;
- Poderei obter informações gerais sobre o estudo quando desejar. Os pesquisadores poderão ser contatados por meio do telefone (21)26292426.



Eu, _____, RG nº _____, responsável legal por _____, RG nº _____, declaro ter sido informado e concordo com a sua participação, como voluntário, no projeto de pesquisa acima descrito.

_____	,	_____	de	_____	de 20____
Local		dia		mês	

Assinatura do responsável	_____	Assinatura do resp. pelo projeto	_____
Assinatura 1ª testemunha	_____	Assinatura 2ª testemunha	_____

ANEXOS

Anexo 1- Considerações éticas

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE/ FM/ UFF/ HU		
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP		
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA		
Título da Pesquisa: Parasitoses intestinais em escolares de Niterói, RJ: frequência, conhecimentos e profilaxia		
Pesquisador: Claudia Maria Antunes Uchôa		
Área Temática:		
Versão: 3		
CAAE: 25061913.0.0000.5243		
Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE		
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio		
DADOS DO PARECER		
Número do Parecer: 621.193		
Data da Relatoria: 04/04/2014		
Recomendações:		
Atualizar o cronograma de coleta das amostras.		
Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:		
A pesquisadora cumpriu todas as pendências solicitadas e portanto esta relatoria recomenda a APROVAÇÃO do projeto.		
Situação do Parecer:		
Aprovado		
Necessita Apreciação da CONEP:		
Não		
Considerações Finais a critério do CEP:		
NITERÓI, 22 de Abril de 2014		
 Assinador por: ROSANGELA ARRABAL THOMAZ (Coordenador)		