

Curso de Especialização em Patologia Clínica Veterinária

FAVET UFRGS



# HELMINTOSES: DIAGNÓSTICO E INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS PARASITOLÓGICOS



Mary Jane Tweedie de Mattos

2022

2 edição

## **MARY JANE TWEEDIE DE MATTOS**

Médica Veterinária. MSc em. Doenças Parasitárias. PhD em Ciências Veterinárias. Professora do Departamento de Patologia Clínica Veterinária da FAVET – UFRGS. Responsável pelo Setor de Helmintoses da FAVET – UFRGS. Coordenadora do Curso de Especialização em Doenças Parasitárias da FAVET - UFRGS. Professora do Curso de Especialização em Doenças Parasitárias da FAVET –UFRGS– UFRGS. Professora do Curso de Patologia Clínica Veterinária da FAVET – UFRGS. Professora orientadora do Curso de Pós Graduação em Alimentos de Origem Animal. FAVET UFRGS

# **HELMINTOSES: DIAGNÓSTICO E INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS PARASITOLÓGICOS**

**Porto Alegre**

**UFRGS**

**2022**

**2 edição**

M444h Mattos, Mary Jane Tweedie de  
Helmintoses : diagnóstico e interpretação de resultados  
parasitológicos / Mary Jane Tweedie de Mattos. – 2. ed. – Porto Alegre :  
UFRGS, 2022.

23.000 Kb ; PDF ; 106 p. ; il.

ISBN 978-65-5973-119-0

1. Medicina veterinária: parasitologia 2. Animais domésticos  
3. Helmintologia 4. Diagnóstico laboratorial: veterinária I. Título

CDD 619.443

CDU 619

Catálogo na publicação: Ana Vera Finardi Rodrigues-CRB 10/884

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE QUADROS</b>	5
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	6
1.Apresentação	7
Lista de Helmitos de ruminantes, caninos, felinos,suínos, equinos, aves. Bugios	9
2.Biosegurança em laboratório de diagnóstico em Helmitoses	13
3.Preparação de soluções para as técnicas laboratoriais	20
4.Métodos de pesquisa de parasitos	26
5.Coleta de amostras para análise laboratorial	27
5.1.Coleta de fezes	27
5.2.Coleta de sangue	28
5.3.Coleta de urina	30
5.4 Recuperação de larvas na pastaem	30
5.5. Coleta de adultos	30
6. EXAME DE FEZES	31
6.1.Exame físico(macrocópico)	31
6.2.Exame microscópico	32
6.2.1.Métodos qualitativos	32
6.2.2. Métodos quantitativos	35
7.Seleção das técnicas	36
8 Interpretação de resultados	39
9.Protocolos dos Métodos de Diagnóstico helmintológico mais utilizados no Laboratório de Helmitologia da FAVET/UFRGS	41
10.Identificação de ovos e larvas de helmitos	92
Material de laboratório	100
Referências bibliográficas	105

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Helmintos de Ruminantes	9
Quadro 2. Lista de Helmintos de Equídeos	10
Quadro 3. Lista de Helmintos de suínos	11
Quadro 4 Lista de Helmintos de cães e gatos	12
Quadro 5. Técnicas parasitológicas para a identificação de ovos, larvas e adultos de helmintos	37
Quadro 6 .Indicações de métodos helmintológicos conforme a técnica	38
Quadro 7 Diferenciação de ovos de <i>Fasciola</i> , <i>Paramphistomum</i> e <i>Eurytrema</i>	63
Quadro 8. Características diferenciais das microfilárias sanguíneas.	90
Quadro 9 Características morfológicas de ovos de helmintos de ruminantes	93
Quadro 10 Identificação de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ruminantes	95
Quadro 11 Características morfológicas de ovos de helmintos de caninos e felinos	97

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.Aferição de solução hipersaturada	24
Figura 2.Coleta e remessa de fezes e sangue	29
Figura 3.Método de Willis-Mollay( passo a passo)	46
Figura 4. Método de Willis-Mollay com tubo de ensaio	50
Figura 5. Método de Sheather-modificado	53
Figura 6 Método de Faust	57
Figura 7.Método de Dennis-Stone ; Swanson( passo a passo)	64
Figura 8. Método de Baermann( passo a passo)	71
Figura 9 Método de Gordon; Whitlock ( passo a passo)	76
Figura 10.Método de Girão;Ueno( passo a passo)	83
Figura 11. Método de Roberts O’Sullivan( passo a passo)	87
Figura 12 Método de Knott modificado	91
Figura 13 Ovos e larvas de helmintos de ruminantes	94
Figura 14 Larvas infectantes de helmintos de ruminantes	96
Figura 15 Ovos e larvas de helmintos de caninos e felinos	98
Figura 16 Ovos e larvas de helmintos de equinos	99
Figura 17 Ovos e larvas de helmintos de suínos	99

## 1.APRESENTAÇÃO

O impacto das helmintoses em cães se reflete principalmente nos óbitos dos animais quando parasitados principalmente antes do nascimento como em infecções por *Ancylostoma* e *Toxocara*. Também casos de dirofilariose adquirida após o nascimento representam grandes perdas tendo em vista os distúrbios cardiovasculares influenciando em todo organismo. Em animais de produção como os ovinos o parasitismo por *Haemonchus* leva a quadros de anemia e mortes súbitas principalmente em estações de clima quente e com umidade. O correto diagnóstico das enfermidades parasitárias inicia com a história clínica do paciente e através de exames complementares é estabelecido. Para que os exames sejam conduzidos é necessário seguir alguns critérios desde a coleta e conservação das amostras. Além disto, devem-se observar os prazos entre as coletas e o processamento

de amostras. A interpretação dos resultados das análises laboratoriais mais utilizados na rotina em Medicina Veterinária, devem ser correlacionados com os sinais clínicos, dados epidemiológicos, conhecimento prévio do ciclo biológico dos helmintos, postura das fêmeas, patogenicidade dos parasitos, estado nutricional e idade dos animais, e tratamento já realizados. Neste documento, foram inseridos os métodos de diagnóstico laboratorial mais utilizados na rotina laboratorial do Helminlab/UFRGS.



## Quadro 1. Helmintos de Ruminantes

ÓRGÃO	CL	PARASITOS
PULMÃO	N	<i>Dictyocaulus filaria</i>
	N	<i>D. viviparus</i>
	N	<i>Muellerius capillaris</i>
ABOMASO	N	<i>Haemonchus contortus</i>
		<i>H. similis/H. placei</i>
	N	<i>Ostertagia (Teladostertagia) circumcincta</i>
		<i>O. trifurcata</i> <i>O. ostertagi</i>
N	<i>Trichostrongylus axei</i>	
INTESTINO DELGADO	N	<i>Cooperia curticei</i>
		<i>C. oncophora /C. pectinata / C. punctata</i>
	N	<i>Bunostomum phlebotomum</i>
		<i>B. trigonocephalum</i>
	N	<i>Strongyloides papillosus</i>
	N	<i>Nematodirus filicolis</i>
		<i>N. spathiger</i>
	N	<i>Neascaris vitulorum</i>
	N	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>
	C	<i>Moniezia benedeni</i>
<i>M. expansa</i>		
C	<i>Thysanosoma actinioides</i>	
N	<i>Oesophagostomum columbianum</i>	
INTESTINO GROSSO	N	<i>O. radiatum</i>
		<i>O. venulosum</i>
	N	<i>Chabertia ovina</i>
N	<i>Trichuris ovis</i>	
FIGADO	T	<i>Fasciola hepatica</i>
		<i>F. gigantica</i>
PANCREAS	T	<i>Eurytrema pancreaticum</i>
		<i>E. coelomaticum</i>
RUMEN		<i>Paramphistomum cervi</i>
		<i>P. gracile/ P. gotoi / P. jilimari/ P. leydeni</i>
		<i>P. nicabrazil</i>

LEGENDA: CL =Classe / N = Nematoda/ A = Acanthocephala / C= Cestoda/ T= Trematoda

## Quadro 2. Lista de Helmintos de Equideos

ÓRGÃO	CL	PARASITOS
<b>PULMÃO</b>	N	<i>Dictyocaulus arnfieldi</i>
<b>ESTÔMAGO</b>	N	<i>Habronema muscae</i>
	N	<i>Habronema majus (H. microstoma)</i>
	N	<i>Draschia megastoma</i>
	N	<i>Trichostrongylus axei</i>
<b>INTESTINO DELGADO</b>	C	<i>Anoplocephala perfoliata</i>
	C	<i>Anoplocephala magna</i>
	C	<i>Paranoplocephala mamillana</i>
	N	<i>Strongyloides westeri</i>
	N	<i>Parascaris equorum</i>
	N	<i>Trichinella spiralis</i>
<b>INTESTINO GROSSO</b>	N	<i>Oxyuris equi</i>
	N	<i>Strongylus (Alfortia) edentatus</i>
	N	<i>Strongylus (Strongylus) equinus</i>
	N	<i>Strongylus (Delafondia) vulgaris</i>
	N	<i>Oesophagodontus robustus</i>
	N	<i>Bidentostomum</i>
	N	<i>Triodontophorus serratus</i>
	N	<i>Triodontophorus tenuicollis</i>
	N	<i>Craterostomum acuticaudatum</i>
	N	<i>Cylicocyclus insigne</i>
	N	<i>Cylicostephanus longibursatus</i>
<b>SANGUE</b>	N	<i>Setaria cervi</i>
<b>PELE</b>	N	<i>Onchocerca cervicalis</i>

LEGENDA:

CL =Classe / N = Nematoda/ A = Acanthocephala / C= Cestoda/ T= Trematoda

## Quadro 3.Lista de Helmintos de suínos

ÓRGÃO	CL	PARASITOS
PULMÃO	N	<i>Metastrongylus spp</i>
ESOFAGO	N	<i>Gongylonema pulchrum/ G. pulchrum</i>
		<i>G. pulchrum</i>
ESTÔMAGO	N	<i>Hyostrongylus rubidus</i>
	N	<i>Ascarops strongylina</i>
	N	<i>Physocephalus sexalatus</i>
	N	<i>Simonsia paradoxa</i>
	N	<i>Trichostrongylus axei</i>
	N	<i>Gnathostoma hispidum; G.doloresi</i>
	N	<i>Ollulanus tricuspis</i>
INTESTINO DELGADO	N	<i>Strongyloides ransomi</i>
	N	<i>Ascaris suum</i>
	N	<i>Globocephalus urosubulatus</i>
	N	<i>Trichinella spiralis</i>
	N	<i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i>
	N	<i>Fasciolopsis buski</i>
INTESTINO GROSSO	N	<i>Trichuris suis</i>
	N	<i>Oesophagostomum spp</i>
FIGADO	N	Larvas de <i>A. suum</i>
	N	Larvas de <i>S. dentatus</i>
	C	<i>Cysticercus tenuicollis</i>
RIM	N	<i>Stephanurus dentatus</i>
MÚSCULOS	C	<i>Cysticercus cellulosae</i>
ESQUELÉTICOS	N	Larva de <i>Trichinella</i>
SANGUE	T	<i>Schistosoma japonicum</i>

LEGENDA:

CL =Classe / N = Nematoda/ A = Acanthocephala / C= Cestoda/ T= Trematoda

### Quadro 4 Lista de Helmintos de cães e gatos

ÓRGÃO	CL	PARASITOS	HOSPEDEIRO DEFINITIVO
<b>PULMÃO</b>	N	<i>Aelurostrongylus abstrusus</i>	gato
<b>ESÔFAGO</b>	N	<i>Spirocerca lupi</i>	Cão
<b>ESTÔMAGO</b>	N	<i>Spirocerca lupi</i>	Cão
	N	<i>Physaloptera praeputialis</i>	Cão / gato
<b>ORO-FARINGE</b>	N	<i>Lagochilascaris</i>	gato
<b>INTESTINO DELGADO</b>	C	<i>Spirometra mansonioides</i>	gato
	C	<i>Taenia hydatigena</i>	Cão
	C	<i>T. pisiformis</i>	Cão
		<i>T. ovis</i>	Cão
	C	<i>Hydatigera taeniformis</i>	gato
	C	<i>Multiceps multiceps</i>	Cão
	C	<i>Echinococcus granulosus</i>	Cão
	C	<i>Dipylidium caninum</i>	Cão / gato
	N	<i>Strongyloides stercoralis</i>	Cão
	N	<i>Ancylostoma braziliense</i>	Cão / gato
	N	<i>A. caninum</i>	Cão / gato
	N	<i>Uncinaria stenocephala</i>	Cão/gato
	N	<i>Toxocara canis</i>	Cão e gato
	N	<i>T. mystax</i>	Gato
N	<i>Toxascaris leonina</i>	Cão / gato	
<b>INTESTINO GROSSO</b>	N	<i>Trichuris vulpis</i>	Cão
	N	<i>T. campunala</i>	Gato
<b>CORAÇÃO</b>	N	<i>Dirofilaria immitis</i>	Cão / gato
	N	<i>Angiostrongylus vasorum</i>	Cão
<b>TECIDO SUBCUTÂNEO</b>	N	<i>Dipetalonema reconditum</i>	Cão
<b>DUCTO BILIAR</b>	T	<i>Platynosomum fastosum</i>	GATO/Cão
<b>RIM</b>	N	<i>Dioctophyma renale</i>	Cão

CL =Classe / N = Nematoda / A = Acanthocephala / C= Cestoda/ T= Trematoda

## **2.BIOSEGURANÇA EM LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO EM HELMINTOSES**

A Biossegurança visa a prevenção, minimização e eliminação de riscos para a saúde, ajudando na proteção do meio ambiente e na conscientização do profissional da saúde. As medidas de segurança adotadas, devem prever os riscos de cada ambiente, as práticas desenvolvidas, os agentes biológicos, químicos, físicos que os funcionários entram em contato e utilização de equipamentos de proteção individual (EPI's) e coletiva.

**Riscos Biológicos:** agentes infecciosos e com materiais potencialmente contaminados, sendo este o principal fator de risco.

**Riscos Químicos:** Os riscos dos produtos químicos para o homem, segundo Concepción (2001), podem ser irritantes, asfixiantes, alérgicos, inflamáveis, tóxicos(causam envenenamento e/ou morte), cáusticos, carcinogênicos ou mutagênicos. Os agentes químicos também estão diretamente relacionados ao armazenamento e descarte.Os resíduos produzidos em laboratórios são variados, representando um problema

de difícil gestão, não havendo um método ou uma única solução que possam ser generalizados. Em relação ao armazenamento é importante que sejam observadas as incompatibilidades entre substâncias químicas (CARVALHO, 1999).

**Riscos Físicos:** Temperaturas extremas e Umidade: estão frequentemente relacionados com o calor. Um colaborador quando submetido a altas e baixas temperaturas terá seu rendimento alterado. Em altas temperaturas, pode apresentar maiores pausas entre as atividades além de ter menor concentração; e em temperaturas muito baixas, ocorre a diminuição da concentração e redução de habilidades motoras. (FONSECA, 2012).

**Riscos Ergonômicos:** Os riscos ergonômicos estão relacionadas ao homem e seu ambiente de trabalho, visando a sua segurança e saúde, bem como à qualidade do sistema. Entre eles são considerados riscos ergonômicos: o levantamento e transporte manual de peso, repetitividade, responsabilidade, ritmo excessivo, posturas inadequadas de trabalho, trabalho

em turnos (MATTOS, 1996). Hábitos do operador em relação a desatenção e negligência frente as atividades potencialmente de risco, como não utilizar luvas, proteção com máscara.O excesso de material sobre a bancada de trabalho; a ausência de cabines de segurança; mistura de produtos quimicos; Outros fatores podem contribuir para afetar a qualidade dos resultados dos trabalhos, como as condições elétricas, ausência de manutenção de equipamentos e destino dos resíduos dos laboratórios.FIOCRUZ(2005).

**Riscos de Acidentes:** A manipulação de materiais sem cumprimento das normas de segurança é uma das principais causas que contribui para a ocorrência de acidentes (CARVALHO, 2000). O laboratório por si só pode ser considerado um local perigoso, se as normas de biossegurança não forem seguidas o risco de acidente torna-se propício. Materiais inflamáveis, explosivos, tóxicos e equipamentos que geram calor são sem dúvida as causa de acidentes mais graves, e seu manuseio, armazenamento e transporte deve ser criterioso (CARVALHO, 2009).



## **NORMAS DE SEGURANÇA EM LABORATÓRIOS DE PARASITOLOGIA CLINICA:**

**Luvas:** utilização de luvas descartáveis

**Máscaras de proteção:** recomenda-se a utilização de máscaras que protejam dos aerossóis dos produtos químicos.

**Capelas de exaustão:** No caso de utilização de corantes, fixados e conservantes com poder cancerígenos é recomendado a utilização de capelas.

**Extintor de incêndio:** Todos os equipamentos de combate a incêndios devem estar disponíveis para o combate ao fogo nos seus primeiros momentos. O operador deve estar capacitado para a utilização do extintor de incêndio, bem como manter dentro do prazo de validade.

## **Destinos dos resíduos gerados no laboratório**

**Material descartado: Fezes:** As fezes diluídas não devem ser descartadas diretamente na pia e assim como o resto de material deve ser colocado na lixeira biológica.

### **Material descartado: Frascos coletores de fezes.**

Após retirada uma porção de amostra biológica para a realização do exame, o frasco deve ser desprezado no interior de lixeiras biológicas contendo saco de coleta para material biológico. Quando os sacos atingiram sua capacidade de armazenamento, devem ser fechados e vedados e encaminhados à coleta de lixo hospitalar.

Nos laboratórios clínicos já foram relatados casos de infecção humana por parasitos como *Ascaris* spp., *Strongyloides* spp., *Enterobius* spp., *Fasciola* spp., *Shistosoma* spp., *Giardia lamblia* e *Cryptosporidium parvum* (SEWELL, 1995). Os casos mais comuns são de giardíase e criptosporidíase em profissionais que manuseiam animais infectados. Também há registros de infecções durante atividade laboratorial associadas aos protozoários como

*Toxoplasma gondii*, *Plasmodium* spp., *Trypanosoma* spp. e *Leishmania* spp. O risco de se infectar com esses agentes é a auto inoculação com seringas e agulhas contaminadas, contato de formas infectantes.

### **AGENTES QUÍMICOS UTILIZADOS PARA INATIVAR OS AGENTES BIOLÓGICOS (FIOCRUZ,2005)**

Álcool a 70% ⇒ parasitos, bactérias e retrovirus

Formol a 4% ⇒ parasitos, bactérias, fungos e virus

Cloro ativo a 1% ⇒ parasitos, bactérias, fungos e virus

### **3.PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES PARA AS TÉCNICAS LABORATORIAIS**

Abaixo estão descritos os procedimentos para a preparação das soluções utilizadas nos métodos de diagnóstico laboratorial de helmintoses de animais conforme citado por MATTOS;HOFFMANN(2011).

#### **FÓRMULAS**

##### **☐ ÁLCOOL CLORÍDRICO 0,5%**

Ácido clorídrico            0,5 mL

Álcool 70°C                100 mL

##### **☐ ÁLCOOL 50°, 60°, 70°, 80°, 90°C**

Colocar o álcool absoluto numa proveta. Adicionar água destilada no álcool absoluto e verificar o grau desejado através do alcoômetro.

**FORMOL OU FORMALINA    2%    5%    10%**

Formol comercial (40%)                    2mL    5mL    10 mL

Água destilada                                98mL    95mL    90mL

**LÍQUIDO DE RAILLIET - HENRY**

Formol 40%                                    5 mL

Ácido acético glacial                    2 mL

Solução fisiológica                        93 mL

**□ LUGOL**

Iodo metalóidico                            5g

Iodeto de potássio                        10g

Água destilada                                100mL

Dissolver o iodeto de potássio na água antes de acrescentar o iodo. Esta solução se deteriora e deve ser preparada a cada 2 semanas.

### **SOLUÇÃO AQUOSA DE AZUL DE METILENO**

Azul de metileno	0,3g
Álcool etílico 95%	30mL
Água destilada	100mL

Dissolver o corante no álcool e juntar a água.

### **SOLUÇÃO DECINORMAL DE SODA CÁUSTICA**

Soda cáustica (NaOH).....	4,5 g
Água destilada.....	1000 ml

### **SOLUÇÃO DE AFA**

Álcool etílico 95°C	50 mL
Formol comercial	10 mL
Ácido acético glacial	2 mL
Água destilada	40 mL

<input type="checkbox"/> <b>SOLUÇÃO DETERGENTE</b>	<b>5%</b>	<b>10%</b>
Detergente	5mL	10mL
Água	95mL	90mL

**SOLUÇÃO FISIOLÓGICA** (Solução salina 0,85%)

Cloreto de sódio	8,5 g
Água destilada	1000 mL

**SOLUÇÃO DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO**

Hidróxido de sódio	10mL
Água destilada	100mL

Manter em frasco escuro.

## □ SOLUÇÃO HIPERSATURADA

Sal grosso (cloreto de sódio= $\text{Na Cl}$ ) 2 kg

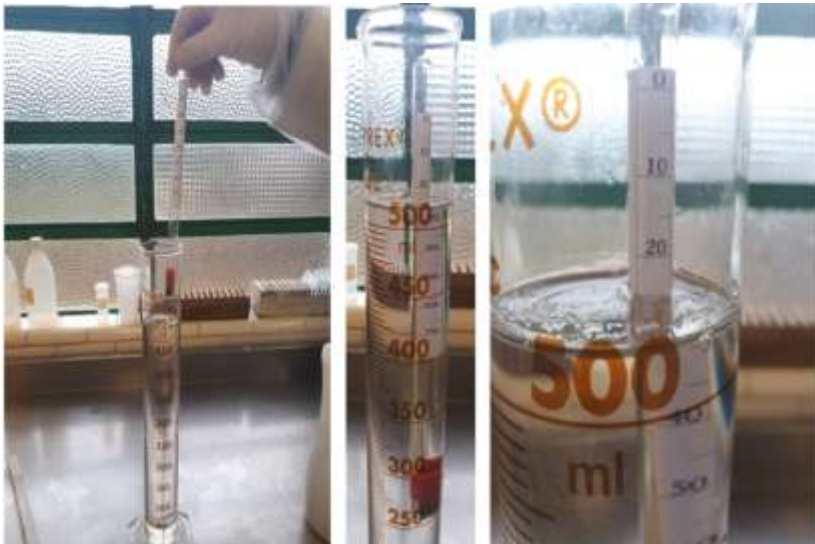
Água da torneira 5 L

Ferver a mistura. Deixar em repouso 24 horas. Retirar o sobrenadante e medir a densidade com o densímetro (1.200-250).

Colocar em frascos fechados e esperar uma semana para a utilização.

Se utilizar sal refinado pode utilizar após a aferição com densímetro.(Figura 1).

Figura 1. Aferição com densímetro





### ☐ **SOLUÇÃO DE SHEATHER**

Açúcar 500g

Fenol 6,5g

Água destilada 320mL

Dissolver o açúcar na água destilada. Aquecer a solução. Adicionar o fenol.

Repouso de 24 horas, em temperatura ambiente.

### ☐ **SOLUÇÃO DE SULFATO DE ZINCO**

Sulfato de zinco 33g

Água destilada 100mL

Adicionar água destilada quente no sulfato de zinco até obter a densidade de 1.182. Filtrar.

## **4.MÉTODOS DE PESQUISA DE PARASITOS**

O profissional deve ter conhecimento das técnicas laboratoriais de diagnóstico, conhecer as normas de biosegurança no laboratório e saber selecionar os métodos diagnósticos para a concluir uma suspeita clinica. Os diferentes exames parasitológicos são realizados conforme a localização de cada agente parasitológico: (Mattos;Hoffmann,2011)

Exame de fezes

Exame de urina

Exame de muco nasal

Sangue

Biopsia

Necropsia

Recuperação de larvas na pastagem

## **5.COLETA DE AMOSTRAS PARA ANÁLISE LABORATORIAL**

A amostra deve ser devidamente identificada com o nome da espécie animal. Lote ou categoria a que pertence, raça, idade, nome do proprietário/tutor, endereço, telefone, exame solicitado, data e horário de coleta, data da última medicação anti-helmíntica e qual o produto utilizado.Deve ser acompanhado da história clínica.

### **5.1. COLETA DE FEZES, IDENTIFICAÇÃO E CONSERVAÇÃO( Figura 2 )**

As amostras fecais devem ser colhidas a fresco e ao abrigo do sol, pois os ovos podem evoluir e desidratar, prejudicando o diagnóstico.

a) Em pequenos animais a coleta deve ser realizada imediatamente após a defecação,retirando a porção que não ficou em contato com o solo.Quantidade=10 a 20 g.

b) Em animais de produção(grandes animais) as amostras devem ser coletadas diretamente do reto,utilizando um saco plástico como luva e depois inverte o saco.A coleta deve ser individual,sendo indicado 10-15 amostras por potreiro/campo e por faixa etária.

As amostras devem ser colocadas em recipientes apropriados,como frascos(limpos e secos, com ampla

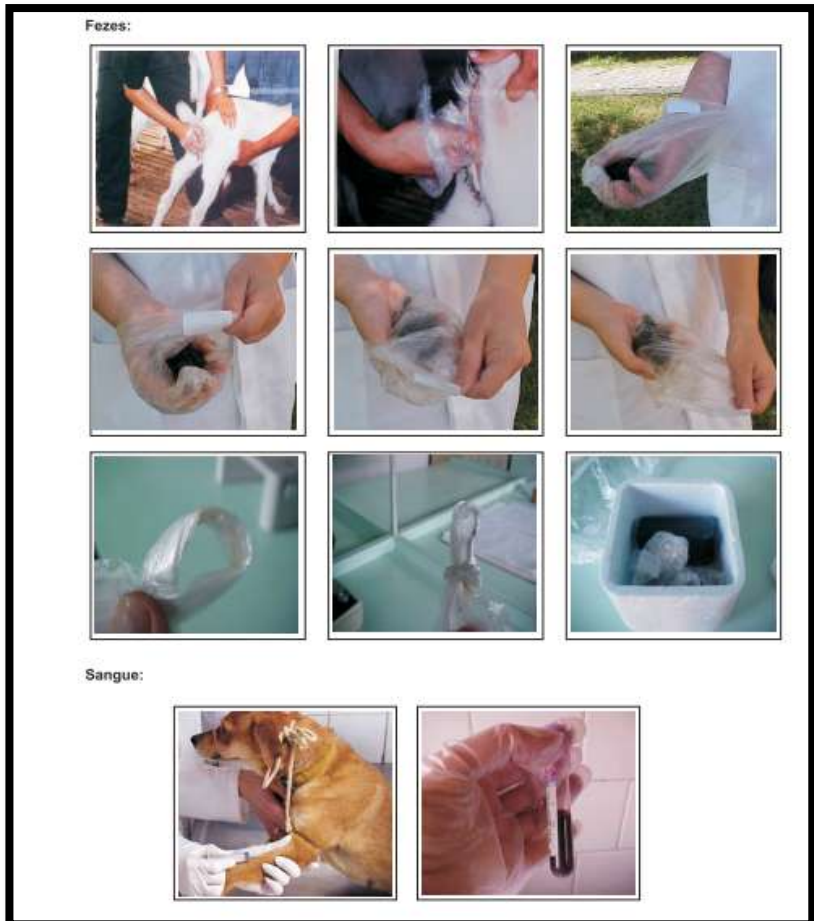
abertura e com tampa) ou sacos plásticos. Após a coleta, devem mantidas em refrigeração(2° C a 8° C)ou em líquidos conservantes (formalina a 5-10%),líquido de Railliet;Henri;solução de MIF= mertiolate, iodo e formalina.

No transporte das amostras fecais utiliza-se caixas de isopor com gelo. No caso de conservação em líquidos conservadores não é necessário enviar em caixa com gelo. Nunca congelar as amostras. Enviar as amostras para o laboratório o mais breve possível.

## **5.2. COLETA DE SANGUE( Figura 2 )**

As amostras de sangue podem ser coletadas em tubos de ensaio com sangue total ou pode ser realizados através de esfregaços sanguíneos. A coleta de sangue em pequenos animais deve ser realizada pela punção da veia jugular, safena lateral ou medial, cefálica ou mamaria. Nos grandes animais e pela punção da veia jugular, coccígea media ou mamária. Em cães cuja suspeita clínica é a dirofilariose, o sangue deve ser coletado a tardinha ou nas primeiras horas do dia, período que as microfilárias estão presentes na corrente periférica.

Figura 2 . Coleta de fezes e sangue (Mattos, 2021)



### **5.3 .COLETA DE URINA**

As amostras de urina são obtidas pela punção direta da bexiga, micção espontânea ou cateterismo. O volume é de 5 a 10 ml. A urina deve ser recente, no máximo, 6 horas após eliminação.

### **5.4. RECUPERACAO DE LARVAS NA PASTAGEM**

As larvas na pastagem indicam o nível de contaminação no campo;potreiro. A coleta de amostras de pastagem deve ser realizada, no máximo até as 10 horas da manhã.Deve-se coletar sub amostras 200 g de cada substrato e imediatamente enviar para o Laboratório.

### **5.5. COLETA DE HELMINTOS ADULTOS**

Separar as vísceras através da utilização de cordão, identificar e acondicionar em sacos de polietileno com formol a 5%,acompanhado de uma ficha com histórico do animal.

## 6.EXAME DE FEZES

### 6.1. EXAME FISICO(macrocópico)

No laboratório, o exame macroscópico das amostras de fezes pode ser realizado por simples observação ou tamisação.

Nos cães é possível visualizar proglotes de *D.caninum* na amostra remetida ao laboratório, e se não for utilizada aquela porção para a realização do exame, e comum não serem visualizados os ovos; capsulas ovigeras do cestodeo. Isto implicaria em um diagnostico falso negativo. O mesmo ocorre em ruminantes parasitados por *Moniezia* spp. Muitas vezes são visualizados os proglotes e na avaliação microscópica os ovos não são observados.

A consistência e forma das fezes dos animais,pode indicar se o animal esta com alguma alteração.Nos carnívoros as fezes são cilíndricas, nos equinos são de forma arredondada e nos bovinos são de forma pastosa.Já os ovinos e caprinos tem as fezes em forma de pequenas bola, semelhantes ao caroço de azeitona. No caso da ancilostomose observa-se que as fezes dos cães ficam escuras e de odor fétido. Já nos ovinos e caprinos quando estão com hemoncose as fezes ficam endurecidas, ressequidas.

## **6.2.EXAME MICROSCÓPICO**

O exame microscópico de fezes deve ser realizado através de um conjunto de métodos que determinam maior fidelidade ao seu resultado.A execução de um único método, na rotina de laboratório, não revela a realidade do parasitismo do hospedeiro (Mattos, Hoffmann, 2011). O exame microscópico revela quais os parasitos envolvidos (exame qualitativo) ou também o grau de parasitismo(exame quantitativo).

### **6.2.1. MÉTODOS QUALITATIVOS**

6.2.1.1. **DIRETO**- quando realizados imediatamente após a coleta de fezes. Pode ser realizado a fresco

#### **MÉTODO DIRETO A FRESCO**

Este método e simples e rápido e permite a visualização direta do material sem concentração.Indicado na rotina clinica, em casos de infecções muito altas em que o animal já esta apresentando sinais clínicos. Em casos de infecções leves dificilmente serão observados ovos de helmintos através deste método. Apesar de não ser muito preciso, todo processamento de material deverá começar por ele, pois possibilita a visualização de outros resíduos não parasitos. Nos herbívoros, pela quantidade acentuada de fibras nas fezes não e um bom método.



### **6.2.1.2.CONCENTRAÇÃO DE OVOS NAS FEZES**

**Técnicas de flutuação:** Método flutuação simples, Método Willis-Mollay, Método Sheather modificado, Método Faust.

**Técnicas de sedimentação:** Métodos simples ou natural, Método Dennis, Stone Swanson modificado, Método Baermann modificado, Método Tubo cônico de concentração, Método Ritchie.

**Técnica da aderência:** Método de Graham modificado

**MÉTODO DE WILLIS-MOLLAY(FLUTUAÇÃO):** Este método se baseia no fato de que os ovos são menos densos que as soluções supersaturadas usadas no processamento (cloreto de sódio, açúcar, sulfato de magnésio e sulfato de zinco), por isso flutuam e são ficam aderidos na lâmina ou lamínula. Os detritos por serem mais densos e mais pesados se sedimentam. Um dos métodos mais utilizados no laboratório, por seu bom para visualizar ovos de helmintos, principalmente para carnívoros e herbívoros.

**MÉTODO DE DENNIS-STONE; SWANSON (SEDIMENTAÇÃO)** O método é utilizado para a pesquisa de ovos de trematódeos e cestódeos. Os ovos por serem mais pesados são depositados no fundo do frasco. Considera-se que quanto mais demorar a sedimentação mais confiável será o resultado.

**MÉTODO DE BAERMANN:** Este método se baseia na motilidade e no termotropismo das larvas. Indicado para visualizar larvas de primeiro estagio de *Dictyocaulus*, *Muellerius*, helmintos pulmonares de ruminantes. Também pode ser utilizado em caso de suspeita de verminose pulmonar em gatos, com o objetivo de verificar a presença de larvas de *Aelurostrongylus* e enterite causada por *Strongyloides*(parasito intestinal de carnívoros).Para a realização deste método e importante que as fezes sejam recentes e recolhidas diretamente do reto do animal, para evitar o tropismo das larvas de vida livre em direção as fezes.

**6.2.2 MÉTODOS QUANTITATIVOS** tem como objetivo determinar a intensidade do parasitismo, apesar de não expressar a real infecção do hospedeiro. Os métodos são **Método de Stoll; Método de Gordon Whitlock-Método de Roberts; O' Sullivan; Método de Girão;Ueno.**

**MÉTODO DE STOLL:** Este método visa a contagem de ovos de helmintos indicado para exame coprológico de pequenos animais.Tem como princípio suspensão titulada de fezes em solução decinormal de soda cáustica.

**MÉTODO DE GORDON WHITLOCK-CONTAGEM DE OVOS POR GRAMA DE FEZES:** Indicado para verificar o grau de infecção dos animais do rebanho. Para a realização do método utiliza-se a câmara de McMaster na qual são contados os ovos de uma amostra de fezes de um rebanho.

**MÉTODO DE ROBERTS O'SULLIVAN (COPROCULTURA)** O método e indicado para obtenção de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais. Baseia-se na identificação das características morfológicas das larvas infectantes, que são típicas para cada gênero.

## **MÉTODO DE GIRÃO ; UENO(4 tamises)**

Pesquisa de ovos dos trematódeos *Fasciola* e *Paramphistomum* .Baseia-se no principio de lavagem das fezes em tamises, com telas metálicas de 100, 180, 200, 250 malhas/polegada.

## **MÉTODO DE AVALIAÇÃO DE ANTI-HELMÍNTICOS**

**1)Teste In vitro:** Teste de Redução de opg; Teste de eficácia controlada. Teste critico.

**2)Teste in vitro:** Teste de eclosão in vitro. Teste de motilidade larval in vitro; teste de fixação de tubulina, Teste de desenvolvimento larval. Análise enzimática

## **7.SELEÇÃO DAS TÉCNICAS (escolha de método de diagnóstico helmintológico).**

O Médico Veterinário seleciona a técnica de acordo com a suspeita clinica.

No quadro 5 estão discriminadas as técnicas parasitológicas para a identificação de ovos, larvas de primeiro estagio e larvas infectantes. (MATTOS;HOFFMANN, 2011)

No quadro 2 estão registrados os principais helmintos observados de acordo com a técnica e a espécie animal. (MATTOS;HOFFMANN, 2011)

**Quadro 5.** Técnicas parasitológicas para a identificação de ovos, larvas e adultos de helmintos.

CLASSE	ESTAGIO	TECNICA
NEMATODEOS	OVOS	A FRESCO
		FLUTUAÇÃO
		SEDIMENTAÇÃO
	LARVAS INFECTANTES	CONTAGEM DE OVOS(OPG)
		COPROCULTURA
	ADULTOS	RECUPERACAO DE LARVAS NA PASTAGEM
		A FRESCO
NECROPSIA		
		BIOPSIA
CESTODEOS	OVOS E SEGMENTOS	A FRESCO
		FLUTUAÇÃO
		SEDIMENTAÇÃO
	ADULTOS	NECROPSIA
TREMATODEOS ACANTOCEFALOS	OVOS	A FRESCO
		SEDIMENTAÇÃO
	MIRACIDIOS	ECLOSÃO
	ADULTOS	NECROPSIA

## Quadro 6 .Indicações de métodos helmintológicos conforme a técnica

ESPECIE MÉTODO	RUMINANTES	CANINOS/ FELINO	EQUINOS	SUINOS
WILLIS- MOLLAY	<i>Neascaris</i>	<i>Toxocara</i>	<i>Parascaris</i>	<i>Ascaris</i>
	Strongyloidea	<i>Ancylostoma</i>	Strongyloidea	Strongyloidea
	<i>Strongyloides</i>	<i>Spirocerca</i>	<i>Strongyloides</i>	<i>Strongyloides</i>
	<i>Nematodirus</i>	<i>Physaloptera</i>	<i>Anoplocephala</i>	<i>Physocephalus</i>
	<i>Trichuris</i>	<i>Trichuris</i>		<i>Trichuris</i>
	<i>Moniezia</i>			
DENNIS- STONE SWANSON	<i>Fasciola</i>	<i>Dipylidium</i>		
	<i>Paramphistomum</i>	<i>Spirometra</i>		
	<i>Eurytrema</i>	<i>Platynossoma</i>		
GIRÃO UENO	<i>Fasciola</i>			
	<i>Paramphistomum</i>			
GORDON WHITLOCK	<i>Neascaris</i>		<i>Parascaris</i>	
	Strongyloidea		Strongyloidea	
	<i>Strongyloides</i>		<i>Strongyloides</i>	
	<i>Nematodirus</i>		<i>Anoplocephala</i>	
	<i>Trichuris</i>			
	<i>Moniezia</i>			
BAERMANN	<i>Dictyocaulus</i>	<i>Aelurostrongylus</i>		
	<i>Muellerius</i>	<i>Strongyloides</i>		
ROBERTS SULLIVAN	<i>Ostertagia</i>		<i>Trichostrongylus</i>	
	<i>Trichostrongylus</i>		<i>Strongylus</i>	
	<i>Haemonchus</i>			
	<i>Cooperia</i>			
	<i>Bunostomum</i>			
	<i>Oesophagostomum</i>			
	<i>Chabertia</i>			

## **8. INTERPRETACAO DE RESULTADOS**

A metodologia de diagnóstico laboratorial eleita deve ter alta qualidade de resultados, rapidez, maior sensibilidade e especificidade, baixo custo, eficiência na detecção ou monitoramento de doenças.

Os resultados podem ser alterados dependendo de alguns fatores como tamanho inadequado e conservação da amostra, contaminação da amostra e utilização de anti-helmínticos.(Mattos;Hoffmann,2008)

### **CASOS CLINICOS**

Caso Clinico Um cão filhote da raça Rottweiler, 5 meses, o qual apresentava os seguintes sinais clínicos: apatia, diarreia, anorexia, perda de peso. Foi solicitado exames de hemograma e parasitológico de fezes.

### **Resultados dos exames complementares**

Exame coproparasitológico grande número de ovos de *Ancylostoma*

*Hemograma anemia normocítica normocrômica aguda*

## Discussão do caso clínico

O canino apresentou *Ancylostoma* spp e uma anemia normocítica normocrômica aguda em decorrência da carência de ferro ocasionada pelas perdas sanguíneas. Isto ocorre porque este parasito pode sugar 0,1mL por dia. Durante a fase aguda pode ocorrer mortes súbitas, sem que os sinais clínicos possam ser visualizados.

Filhotes que sobrevivem essa **fase aguda** podem continuar sofrendo de anemia de forma crônica

Quando o sangramento se torna crônico, ocorre a perda cumulativa de ferro, os valores de VCM e HCM diminuem e a anemia se transforma em microcítica e hipocrômica



## **9.PROTOCOLOS DOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO HELMINTOLÓGICOMAIS UTILIZADOS NO LABORATÓRIO DE HELMINTOLOGIA DA FAVET/UFRGS**

## MÉTODO DE WILLIS - MOLLAY

**OBJETIVO:** Identificação de ovos de nematódeos, oocistos de protozoários e ovos de *Moniezia* spp.

**PRINCÍPIO:** Flutuação. Exame microscópico qualitativo direto, após concentração de fezes.

### MATERIAL



2 a 5 g de fezes.

Solução hipersaturada de cloreto de sódio (NaCl). Densidade: 1:250.

1 tamis; 2 copos.

1 bastão de vidro; 1 copo de Borrel.

1 placa de Petri (7,5 cm); 1 lâmina de vidro (4x7cm).

## **TÉCNICA**

- Colocar a amostra de fezes em um copo. Utilizar o bastão de vidro para triturar a amostra de fezes.
- Acrescentar 20 ml de solução hipersaturada de cloreto de sódio. Homogeneizar. Não agitar em demasia, evitando a formação de bolhas de ar.
- Filtrar a suspensão de fezes, através do tamis, para outro copo.
- Colocar a suspensão de fezes no copo de Borrel (que deve estar dentro de uma placa de Petri) e completar o volume com solução hipersaturada de NaCl, formando um menisco convexo.
- Colocar a lâmina de vidro sobre o copo de Borrel, de modo que a lâmina entre em contato com o menisco convexo. Não deverá ter bolhas de ar entre lâmina e a superfície do líquido.
- Deixar em repouso por 15 minutos. Remover a lâmina, invertendo rapidamente sua posição, para evitar a queda da película aderente.
- Examinar ao microscópio (100x) toda a lâmina em ziguezague.

Identificar todos os ovos contidos na película aderente.

## **OBSERVAÇÕES**

Para o diagnóstico de ovos de *Metastrongylus* spp (usar, de preferência, a solução de sulfato de zinco).

- Podem ser empregadas soluções hipersaturadas ou saturadas de sulfato de magnésio, açúcar ou cloreto de cálcio, sempre de elevada densidade, de modo que os ovos e oocistos por sua menor densidade, tendem a subir, de maneira que aderem à superfície inferior da lâmina.

- Observar ao microscópio rapidamente para evitar a evaporação.

Pode ser utilizada a lamínula.

Os ovos não flutuam na superfície da solução, quando a homogeneização do material fecal é incompleta, havendo uma imperfeita separação dos ovos e dos detritos fecais.











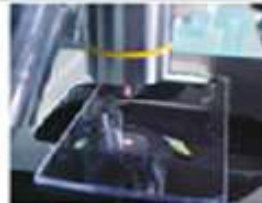
## **INTERPRETAÇÃO DA CONTAGEM DOS OVOS**

Pequenos animais: 1 ovo=administrar  
medicação.

Grandes animais: a partir de 3 ovos =administrar  
medicação.

## Técnicas: Passo a Passo

Figura 3 Método de Willis-Mollay

		
1. Colocar a amostra no copo.	2. Triturar.	3. Colocar solução hipersaturada de NaCl.
		
4. Homogeneizar.	5. Tamisar.	6. Colocar no copo de borrel.
		
7. Preencher com hipersaturada de NaCl (menisco).	8. Colocar a lâmina.	9. Deixar em repouso.
		
10. Remover a lâmina.	11. Observar no microscópio em 100X.	

Fonte: MATTOS; HOFFMAN. 2020

## MÉTODO DE WILLIS – MOLLAY com tubo de ensaio

**OBJETIVO:** Identificação de ovos de nematódeos, oocistos de protozoários e ovos de *Moniezia* spp.

**PRINCÍPIO:** Flutuação. Exame microscópico qualitativo direto, após concentração de fezes.

### MATERIAL



- 2 a 5 g de fezes.
- Solução hipersaturada de cloreto de sódio (NaCl) com densidade: 1:250.
- 1 tamis; 2 copos.
- 1 bastão de vidro; 1 tubo de ensaio
- 1 laminula; 1 lâmina de vidro (4x7cm).
- 1 estante

## **TÉCNICA**

- Colocar a amostra de fezes em um copo. Utilizar o bastão de vidro para triturar a amostra de fezes.

- Acrescentar 20 ml de solução hipersaturada de cloreto de sódio. Homogeneizar. Não agitar em demasia, evitando a formação de bolhas de ar.

- Filtrar a suspensão de fezes, através do tamis, para outro copo.

- Colocar a suspensão de fezes no tubo de ensaio (que deve estar em cima de uma estante) e completar o volume com solução hipersaturada de NaCl, formando um menisco convexo.

Colocar a lamínula sobre o tubo de ensaio, de modo que a lamínula entre em contato com o menisco convexo. Não deverá ter bolhas de ar entre lamínula e a superfície do líquido.

- Deixar em repouso por 15 minutos. Remover a lamínula e colocá-la em cima de uma lamina. Examinar ao microscópio (100x) toda a lamínula em zigue-zague.

Identificar todos os ovos contidos na película aderente.



## **OBSERVAÇÕES**

Para o diagnóstico de ovos de *Metastrongylus* spp (usar, de preferência, a solução de sulfato de zinco).

Podem ser empregadas soluções hipersaturadas ou saturadas de sulfato de magnésio, açúcar ou cloreto de cálcio, sempre de elevada densidade, de modo que os ovos e oocistos por sua menor densidade, tendem a subir, de maneira que aderem à superfície inferior da lamínula.

Observar ao microscópio rapidamente para evitar a evaporação.

Os ovos não flutuam na superfície da solução, quando a homogeneização do material fecal é incompleta, havendo uma imperfeita separação dos ovos e dos detritos fecais.













## **INTERPRETAÇÃO DA CONTAGEM DE OVOS**

Pequenos animais: 1 ovo administrar  
medicação.

Grandes animais: a partir de 3 ovos → administrar  
medicação.

## Técnicas: Passo a Passo

Figura 4 Método de Willis-Mollay com tubo de ensaio

		
1. Colocar a amostra no copo.	2. Triturar.	3. Colocar solução hipersaturada de NaCl.
		
4. Homogeneizar.	5. Tamisar.	6. Colocar a solução filtrada no tubo de ensaio.
		
7. Preencher com hipersaturada de NaCl (menisco).	8. Colocar a laminula em cima do tubo de ensaio.	9. Deixar em repouso.
		
10. Retirar a laminula.	11. Colocar a laminula em cima de uma lâmina.	12. Observar no microscópio em 100X.

## MÉTODO DE SHEATHER - modificado

**OBJETIVO:** Pesquisa de ovos de helmintos e oocistos de protozoários.

**PRINCÍPIO:** Flutuação com centrifugação. Exame qualitativo direto, após concentração de fezes.

### MATERIAL



Um grama de fezes.

Solução de Sheather.

Solução fisiológica.

Tamis.

Copo (100mL)

Lâmina e lamínula.

Bastão de vidro.

Becker ou outro frasco de vidro (100mL).

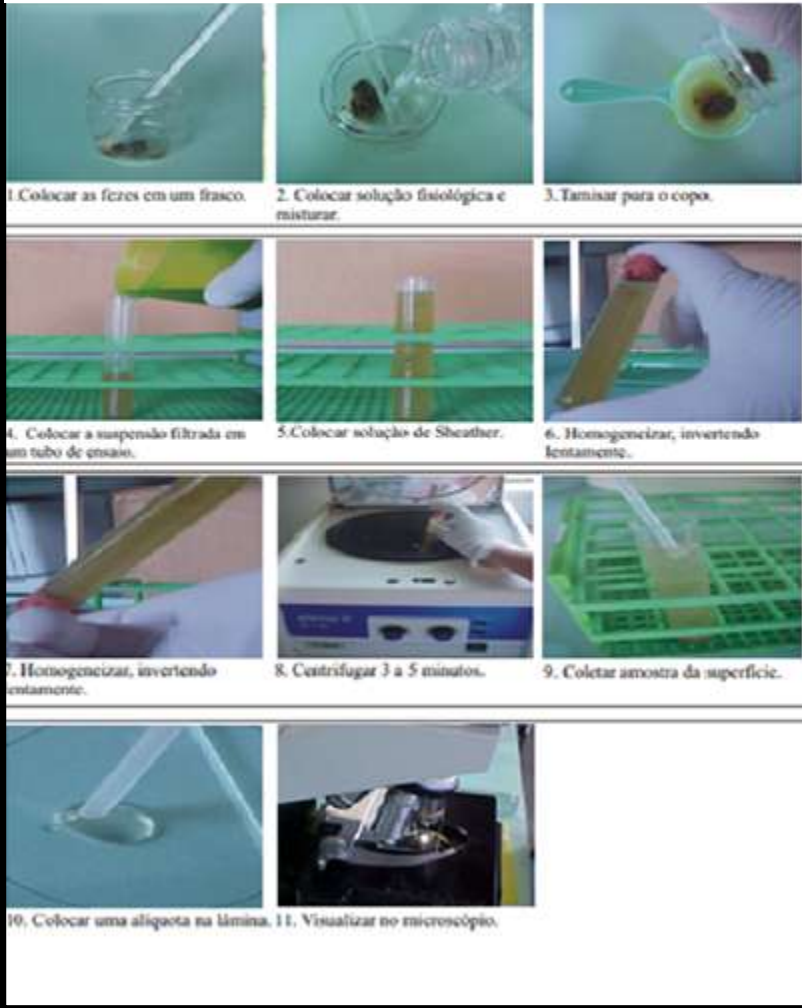
Tubo de centrifugação. Centrífuga.

## **TÉCNICA**

- Colocar as fezes no Becker ou frasco de vidro com o auxílio do bastão.
- Misturar as fezes com a solução fisiológica, o suficiente para a fluidificação.
- Tamisar para um copo (100mL).
- Encher os tubos da centrífuga até metade com a suspensão filtrada.
- Adicionar uma quantidade igual da solução de Sheather.
- Homogeneizar, invertendo lentamente o tubo várias vezes.
- Centrifugar a mistura durante 3 - 5 minutos (1500-2000 rpm). Retirar uma alíquota de cima e colocar em lâmina.

## Técnicas: Passo a Passo

Figura 5 Método de Sheather-modificado



Fonte: MATTOS; HOFFMAN. 2020

## MÉTODO DE FAUST

**OBJETIVO:** Pesquisa de ovos de helmintos e oocistos de protozoários.

**PRINCÍPIO:** Flutuação com centrifugo-flutuação. Exame qualitativo direto, após a concentração de fezes.

## MATERIAL

- Um grama de fezes.
- Água de torneira (10mL)
- Sulfato de zinco (1.182) = 1-2mL
- Solução de lugol.
- Lâmina e lamínula de vidro.
- Copos.
- Pipeta ou alça de platina.
- Bastão de vidro

- Tamis.
- Tubos de centrifuga (capacidade de 15 mL).
- Centrifuga.

## **TÉCNICA**

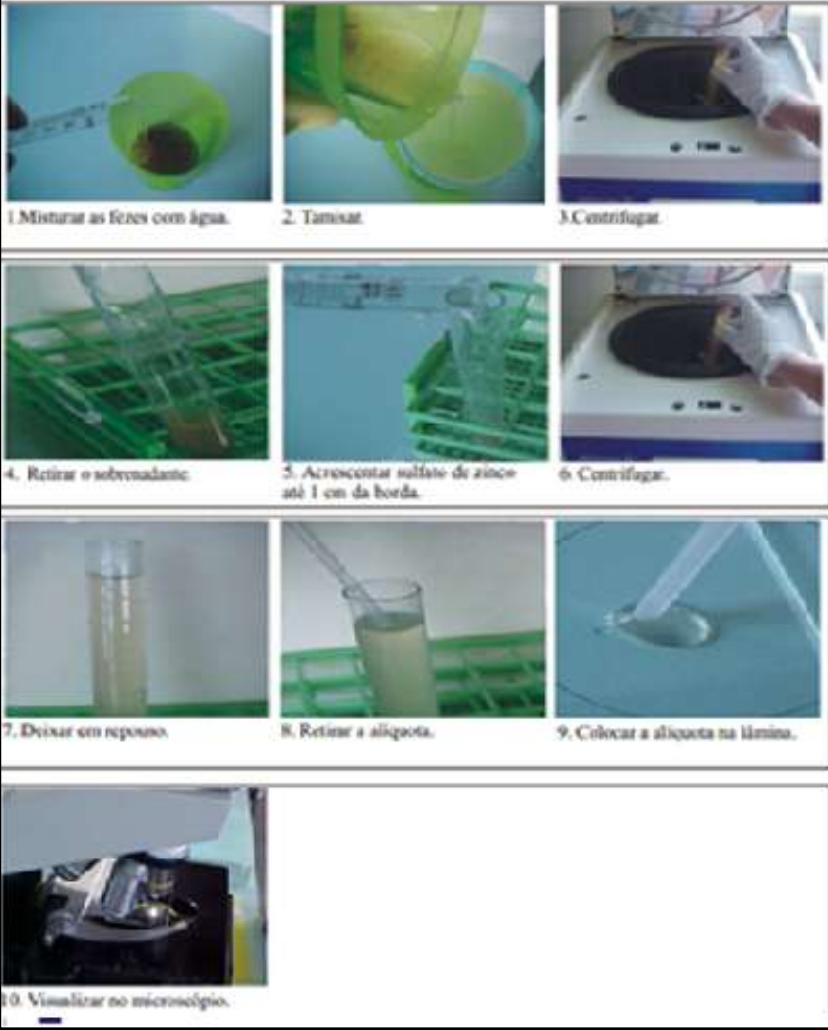
- 1. Misturar as fezes com a água de torneira.
- 2. Tamisar.
- 3. Colocar a suspensão no tubo de centrifuga.
- 4. Centrifugar o filtrado durante 1 minuto por 2500 rpm.
- 5. Decantar o sobrenadante e reter o sedimento.
- 6. Adicionar 10 mL de água ao sedimento
- 7. Repetir essa operação 2 a 3 vezes até que o sobrenadante fique claro.
- 8. Desprezar o sobrenadante e reter o sedimento.
- 9. Adicionar ao sedimento 1 -2 mL da solução de zinco. Misturar bem.
- 10. Adicionar mais solução de zinco até 1 cm da borda do tubo.

- 11.Centrifugar durante 1 minuto a 2500 rpm. Não frear a centrífuga.
- 12.Deixar em repouso os tubos por 5 minutos.
- 13.Colocar os tubos num suporte, sem agitar.
- 14.Retirar várias gotas da película superficial utilizando uma pipeta.Colocar em uma lâmina.Examinar ao microscópio entre lâmina e lamínula, adicionando uma gota de solução de lugol.



## Técnicas: Passo a Passo

Figura 6 Método de Faust



## **MÉTODO DE LUTZ - HOFFMAN, PONS EJANER**

### **(SEDIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA)**

**OBJETIVO:** Pesquisa de ovos de trematódeos e cestódeos. Útil na demonstração de cistos de *Entamoeba histolytica* e ovos de *Ascaris* spp. Empregado também como processo de lavagem.

**PRINCÍPIO:** Sedimentação de ovos. Exame microscópico qualitativo direto, após concentração de fezes ou urina.

### **MATERIAL**

5 a 10g fezes ou urina.

400ml de solução fisiológica ou água da torneira.

1 lâmina e 1 lamínula.

1 bastão de vidro.

1 tamis.

1 Becker (250-500ml).

1 cálice de sedimentação (500ml).

1 pipeta de Pasteur.

## TÉCNICA

- Diluir as fezes em 200 ml de solução fisiológica ou água no Becker. Se necessário, para haver amolecimento, deixar em repouso por 10-15 minutos.

- Tamisar a suspensão diretamente no cálice de sedimentação.

Deixar em repouso 20-30 minutos.

- Decantar o líquido sobrenadante e adicionar ao sedimento 200ml de solução fisiológica ou água.

- Agitar a mistura, deixando sedimentar por 20-30 minutos.

- Decantar o líquido sobrenadante.

- Coletar com pipeta algumas gotas do sedimento.

- Examinar ao microscópio entre lâmina e lamínula.

- Se o primeiro resultado for negativo, repetir o exame até 3 vezes.

**OBSERVAÇÃO** O tempo de sedimentação varia de 1 a 24 horas. No caso do gênero *Schistosoma*, usar a solução fisiológica para evitar a ecdise do miracídio.

## MÉTODO DE DENNIS-STONE & SWANSON modificado

**OBJETIVO:** Pesquisa de ovos de trematódeos, cestódeos e acantocéfalos.

**PRINCÍPIO:** Sedimentação de ovos. Exame microscópico qualitativo direto, após concentração de fezes.

### MATERIAL



2g de fezes.

Solução detergente a 10%.

Água comum.

Corantes: 1 a 2 gotas de Verde de Metila ou Lugol ou Azul de Metileno.

1 cálice de sedimentação (200-500ml).

1 copo; 1 bastão de vidro.

1 lâmina de vidro (4x7cm) e 1 lamínula; 1 pipeta de Pasteur.

1 tamis.

## **TÉCNICA**

- Triturar as fezes com o bastão de vidro e adicionar 30ml de solução detergente.
- Tamisar, passando para o cálice de sedimentação. Preencher com solução detergente até um dedo da borda do copo de sedimentação.
- Repousar 10 a 15 minutos.
- Desprezar o sobrenadante. Adicionar ao sedimento, através do tamis, mais solução detergente ou água.
- Repousar por 15 minutos. Repetir o processo até que o sobrenadante fique transparente.
- Adicionar, com auxílio a Pipeta de Pasteur, 1 a 2 gotas do corante escolhido, ao sedimento. Misturar. Repousar 1 a 2 minutos.

- Pipetar uma gota do sedimento sobre a lâmina. Espalhar a gota sobre a lâmina.
- Examinar ao microscópio (100X). Se preferir, colocar lamínula.

Examinar todo o sedimento.

## **OBSERVAÇÃO**

Para a observação de cestódeos de cães usar água da torneira, não sendo necessário a solução detergente (Método de Sedimentação Espontânea).No exame de fezes de ruminantes não utilizar o lugol, porque a coloração deste dificulta a visualização de ovos de *Fasciola* spp.

Quadro 7 Diferenciação dos ovos de *Fasciola*  
*Paramphistomum Eurytrema*

GÊNERO	TAMANHO (µm)	COR	CARACTERÍSTICAS
<i>Fasciola</i> spp.	130-197 x 70-104	Amarelo claro	Cheio de grânulos finos Núcleo descentralizado
<i>Paramphistomum</i> spp.	125-148 x 55-77	Esbranquiçado ou incolor	Poucos grânulos e grandes. Núcleo centralizado
<i>Eurytrema</i> spp.	42-80 x 23- 40	Castanho escuro	Ovos pequenos, arredondados com embrião e dois grânulos

## Técnicas: Passo a Passo

Figura 7 Método de Dennis-Stone;Swanson modificado





## MÉTODO DE RITCHIE

**OBJETIVO:** Pesquisa de ovos e larvas de helmintos (*Platynosomum* spp.) e protozoários.

### PRINCÍPIO

Centrífugo-sedimentação. Exame microscópico qualitativo direto, após concentração de fezes. Esta técnica é também referida como processo pelo formol - éter (sua concentração é superior a técnica de Faust).

### MATERIAL

Fezes frescas = 1 a 2 g.

10 ml de solução fisiológica a 0,85% ou água da torneira.

10 ml de formol comercial a 10%.

1 a 2 gotas de lugol.

3 ml de éter.

1 tubo de ensaio e 1 funil.

1 tamis.

1 palito ou estilete.

Gaze.

Lâminas e lamínulas.

Centrífuga.

## **TÉCNICA**

●Emulsionar as fezes em 10 ml de solução fisiológica ou água corrente.

T●amisar através da gaze para um tubo de ensaio, com auxílio de um funil. Tampar os tubos com rolha de borracha, sempre que centrifugar.

●Centrifugar a suspensão de fezes a 1500 a 2000 rpm., durante 2 minutos.

●Decantar o sobrenadante.

Ressuspender o sedimento em solução fisiológica ou água de torneira, centrifugar e decantar novamente, até que o sobrenadante se apresente relativamente claro.

●Acrescentar 10ml de solução de formol a 10%, ao sedimento. Misturar energicamente e deixar em repouso durante 5 minutos.

●Adicionar 3ml de éter ou acetato de etila.Agitar bem.

●Centrifugar a 1500 rpm., durante 2 minutos. Remover a tampa com cuidado.Camadas: **Superior** = éter. **Segunda** = gordura e detritos fecais. **Terceira** = formalina. **Inferior** ( fundo do tubo) = sedimento, contendo ovos ou larvas de helmintos e protozoários.

●Afrouxar e separar com um palito o anel formado pelos restos de materia fecal das paredes do tubo.

●Decantar as três camadas superiores.

Misturar ao sedimento 1 ou 2 gotas de lugol

Examinar todo sedimento entre lâmina e lamínula.realizando várias lâminas

## MÉTODO DE BAERMANN- modificado

**OBJETIVO:** Pesquisa de larvas de 1<sup>o</sup> estágio de nematódeos pulmonares (L1) e larvas de *Strongyloides stercoralis*.

**PRINCÍPIO:** Termo-hidrotropismo positivo e sedimentação das larvas. Exame qualitativo direto, após concentração de fezes. Não é específico, pode-se encontrar cistos e ovos de outros parasitos.

### MATERIAL



2 a 3g de fezes frescas.

1 cálice de sedimentação ou tubo cônico de centrifugação.

1 grampo ou arame; 1 pipeta de Pasteur.

Água de torneira morna (40°).

Gaze e barbante; Lâminas e Lamínulas.

Lugol.

## **TÉCNICA**

- Envolver as fezes, já trituradas, em gaze dobrada 4 vezes, formando um saquinho. Prender o saquinho em um arame.
- Colocar o saquinho dentro do cálice, previamente preenchido com água morna, de modo que ele fique submerso.
- Deixar em repouso no mínimo por 12 horas.
- Retirar o saquinho. Desprezar o sobrenadante. Coletar com a Pipeta de Pasteur uma gota do sedimento.
- Colocar a gota do sedimento em uma lâmina. Corar e matar as larvas com lugol. Cobrir a lâmina com uma lamínula.
- Examinar ao microscópio (100x). Montar e examinar várias lâminas.

## OBSERVAÇÕES

Fezes líquidas não são adequadas para este método. Quando as mesmas se apresentarem liquefeitas pode-se acrescentar uma porção farinha de milho ou serragem para torná-las um pouco pastosas

Quadro 10. Principais características das larvas pulmonares ( L1) de ruminantes

<b>Espécies</b>	<i>Dictyocaulus filaria</i>	<i>Dictyocaulus viviparus</i>	<i>Muellerius capillaris</i>	<i>Protostrongylus rufescens</i>
<b>HOSPEDEIRO</b>	Ovinos/Caprin os	Bovinos	Ovinos/Caprin os	Ovinos
<b>TAMANHO</b>	550-580mm	390-450mm	Pequenas	Robustas
<b>BOTÃO CEFÁLICO</b>	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
<b>CAUDA</b>	Romba/ Arredondada	Ponta	Curva	Pontiaguda / Ondulante
<b>APÊNDICES</b>			Dois (Espinho Dorsal)	Ausente

## Técnicas: Passo a Passo

Figura 8 Método de Baermann



1. Triturar as fezes na própria gase, com as pontas dos dedos enrolada na gase.



2. Juntar as pontas da gase que contem as fezes, fazendo um saquinho.



3. Colocar água morna no frasco de sedimentar.



4. Colocar a gase com as fezes, mergulhada na água do frasco de sedimentação.



5. Deixar repousar por 12 horas.



6. Retirar o sobrenadante.



7. Retirar uma amostra e colocar na lâmina.



8. Visualizar no microscópio.

Fonte: MATTOS; HOFFMAN. 2020

## MÉTODO DE GORDON & WHITLOCK-modificado

**OBJETIVO:** Identificação e contagem de ovos de helmintos por grama de fezes (OPG). Indicado para fezes de grandes animais.

**PRINCÍPIO:** Método de flutuação. Exame microscópico quantitativo e qualitativo.

## MATERIAL



Fezes

**OVINOS, CAPRINOS=** 2 g. de fezes

**BOVINOS, EQUINOS E SUÍNOS:** 4 gramas. de fezes



**28 ml** (2g de fezes) ou **26 ml** (4g de fezes) de solução fisiológica ou água corrente.

**30 ml** de solução hipersaturada de cloreto de sódio ( densidade 1:250).

1 câmara de McMaster, 1 pipeta de Pasteur com pera de borracha.

2 copos, 1 bastão de vidro. 1 proveta graduada, 1 tamis.

## **TÉCNICA**

- Triturar as fezes em um copo com o bastão de vidro.
- Adicionar a solução fisiológica ou a água. Homogeneizar. Tamisar para outro copo.
- Acrescentar, sobre a tela do tamis, a solução hipersaturada de Na Cl.
- Retirar o tamis. Homogeneizar o líquido.
- Retirar com a pipeta uma amostra para encher uma célula da câmara de McMaster. Repetir a operação e encher a outra célula.
- Repouso de 1 a 2 minutos para os ovos flutuarem.

- Observar ao microscópio (10x). Contar os ovos contidos nas duas células da câmara. O foco é das bolhas. Contar os ovos existentes nas linhas.

## **OBSERVAÇÕES**

O resultado total será o número de ovos por grama de fezes (OPG).

Os ovos encontrados devem ser contados separadamente:

- a) Strongyloidea
- .b) *Strongyloides*.
- c) *Neoascaris*,
- .d) *Capillaria*, *Trichuris*.
- e) *Nematodirus*

**Em OVINOS:**O total de ovos encontrado nas duas células da câmara McMaster será multiplicado por 100

**FATOR DE CORREÇÃO:** utilizar quando as fezes não estão com a consistência normal

Fezes normais                      x . 1

Fezes semi-pastosas    x . 1,5

Fezes pastosa                      x . 2

Fezes diarréicas    x . 2,5

**INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS**            ⇒  
**DIAGNÓSTICO**

A partir dessa contagem aconselha-se a administração de anti-helmínticos

**BOVINOS:** 300 opg

**EQUINOS:** 300 opg

**OVINOS:** 500 opg

A presença de oocistos de protozoários e de ovos de cestódeos será observada, mas não contada.

# Técnicas: Passo a Passo

Figura 9, Método de Gordon & Whitlock – modificado



1. Pesar as fezes.



2. Triturar as fezes.



3. Colocar água.



famizar.



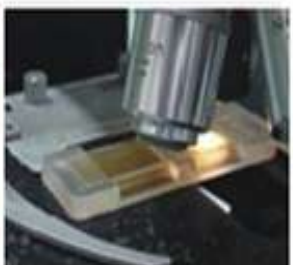
Colocar solução hipersaturada de NaCl



famizar.



Preencher a câmara de MacMaster



Observar no microscópio.

## MÉTODO DE STOLL

**OBJETIVO:**Contagem de ovos de helmintos. Indicativo para fezes de cães e gatos.

**PRINCÍPIO:** Suspensão titulada de fezes em solução decinormal de soda cáustica. Método quantitativo.

### MATERIAL

3 g de fezes.

1 frasco de Erlenmeyer de 100 ml, com duas marcas: uma a 56 ml e outra a 60 ml.

45 ml de solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 1/10 normal.

1 pipeta de 0,5 ou 1 ml . Marcar na pipeta 0,15 ml de capacidade .

10 pérolas de vidro (3-4 mm de diâmetro)

1 lâmina e 1 lamínula.

1 rolha de borracha.

## TÉCNICA

- Colocar, no frasco de Erlenmeyer, as pérolas de vidro junto com as fezes.
- Acrescentar a solução decinormal.
- Tampar com a rolha o frasco.
- Agitar invertendo o frasco várias vezes.
- Retirar, **rapidamente**, a rolha e com a pipeta coletar 0,15 ml do centro do líquido.
- Examinar a quantidade de 0,15 ml da diluição na lâmina recoberta pela lamínula.
- Observar no microscópio.
- Contar o número de ovos em toda a lâmina, percorrendo-a em zigue-zague.
- Multiplicar o número de ovos dos helmintos encontrado por 100, calculando assim o valor da contagem do OPG (ovos por grama).

$$x \cdot 100 = \text{valor do OPG}$$

## **SOLUÇÃO DECINORMAL DE SODA CÁUSTICA**

Soda cáustica (NaOH)..... 4,5 g

Água destilada..... 1000 ml

## MÉTODO DE GIRÃO & UENO (QUATRO TAMISES)

**OBJETIVO:** Pesquisa de ovos de *Fasciola hepatica* e *Paramphistomum* spp.

**PRINCÍPIO:** Lavagem e sedimentação. Método qualitativo e quantitativo.

### MATERIAL



Fezes: OVINOS: 1 g BOVINOS: 2g

Solução detergente a 10% ou 25%.

Água de torneira.

Frascos com tampa, ou copo com capacidade de 80 a 100 mL.



Tamises com telas metálicas de 100, 180, 200 e 250 malhas/polegada com abertura de 174, 96, 87 e 65 $\mu$ , respectivamente.

Placa de Petri com 9 mm diâmetro, riscada em linhas paralelas, com lápis diamante.

Pipeta de Pasteur com pera de borracha e abertura de 1,5 mm de diâmetro.

Bastão de vidro.

Corante ( Verde de metila a 0,5% ou tinta de caneta).

## **TÉCNICA**

- Pesar as fezes e colocar no frasco com tampa.
- Diluir em 30 ml de água de torneira e 5 gotas de solução detergente(10%) ou 2 gotas(25%).
- Homogeneizar o conteúdo, agitando vigorosamente por 1 a 2 minutos.
- Passar a mistura lentamente no conjunto de tamises dispostos uns sobre os outros.
- Lavar em água corrente lentamente, descartando-se os três primeiros tamises, um a um.
- Recolher o material retido no último tamis(250), invertendo-o sobre a Placa de Petri, utilizando-se um fino

jato de água no sentido inverso deste tamis ou encher com água e puxar (levantar) o tamis.

●Repousar 2 minutos.Adicionar 1 a 2 gotas de verde de metila a 0,5%.Examinar ao estereomicroscópio (20 a 40x).

⇒ **DIAGNÓSTICO:**

O número de ovos observada na placa representa a contagem do OPG (ovos por grama de fezes).

## Técnicas: Passo a Passo

Figura 10. Método de Girão & Ueno (Quatro tamises)



1. Pesar as fezes.



2. Triturar as fezes.



3. Colocar água e misturar.



4. Colocar sobre os 4 tamises.



5. Deixar passar água sobre os tamises.



6. Descartar um a um os tamises, lavando bem.



7. O último tamis (250 malhas) é invertido e colocado na placa de Petri.



8. Colocar água como mostra a figura.



9. Levantar o tamis que estava na placa de Petri.



10. Colocar verde de metila na placa e agitar.



11. Visualizar no estereomicroscópio.

## MÉTODO DE ROBERTS;O’SULLIVAN (COPROCULTURA)

**OBJETIVO:** Identificação genérica dos helmintos através das larvas infectantes. Verificar falhas de anti-helmínticos (Resistência ). Cálculo da carga patogênica.

**PRINCÍPIO:** Cultura de larvas de helmintos eliminados nas fezes. Método de extração de larvas infectantes de uma cultura de fezes.

### MATERIAL



3 a 5 gramas de fezes.

Serragem de madeira de pinho, bolinhas de isopor ou erva-mate lavada e seca.

Copo de vidro; Pipeta de Pasteur; Bastão de vidro.

Borrifador; Placa de Petri.

Água morna.

1 a 2 gotas lugol a 1% .

Estufa.

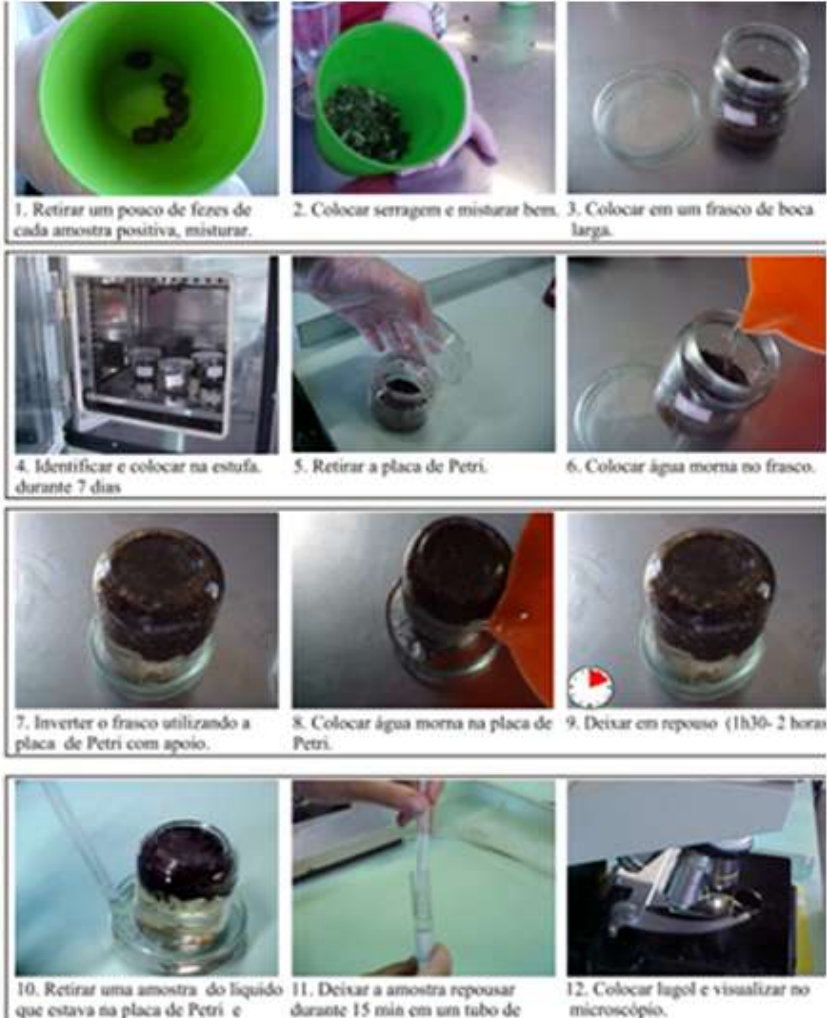
## **TÉCNICA**

- Misturar as fezes com a serragem em proporções aproximadamente iguais, de modo que o conjunto fique homogêneo, frouxo e arejado.
- Colocar a mistura no copo. Com um bastão fazer uma leve pressão na superfície.
- Borrifar a cultura com água sem umedecer muito. Identificar o copo com o número do animal e data.
- Cobrir o copo com a placa de Petri. Levar a estufa à temperatura de 25°C-27°C e umidade relativa alta, durante 7 dias.
- Controlar diariamente o grau hidrométrico da cultura. Retirar o copo de cultura da estufa ao final do período determinado.
- Acrescentar água morna até encher o copo, formando um menisco na parte superior. Cobrir com a placa de Petri e inverter.

- Colocar um pouco de água morna na placa de Petri invertida.
- Repousar no mínimo 1 a 2 horas
- Retirar o líquido da placa, colocar num tubo de ensaio. Deixar sedimentar por 10 a 15 minutos..
- Desprezar um pouco do sobrenadante. Colocar uma gota do sedimento na lâmina.
- Fixar as larvas com 1 gota de lugol (morte e coloração). Fixar somente na hora da contagem. Cobrir com lamínula.
- Examinar ao microscópio (100x). Contar no mínimo 100 larvas para se ter a percentagem de gêneros na amostra de fezes. Guardar as larvas na geladeira quando não examinar na hora.

## Técnicas: Passo a Passo

Figura 11. Método de Roberts & O'Sullivan



## MÉTODO DE KNOTT Modificado

**OBJETIVO:** Pesquisa de microfilárias.

**COLETA:**Sangue venoso = 5-10ml

**MATERIAL:**



- Sangue
- Tubo de ensaio
- Pipeta de Pasteur
- Formalina a 2%
- Lâmina
- Azul de metileno
- Centrifuga



## **TÉCNICA**

- Colocar 1mL de sangue com anticoagulante em um tubo com capacidade de 15 mL.

- Adicionar 10ml de formalina a 2%.

Inverter o tubo várias vezes, agitando suavemente a mistura (lisa as hemácias e fixa os leucócitos e as microfiárias).

- Centrifugar a 1500 rpm durante 5 minutos.

- Desprezar o sobrenadante.

- Misturar o sedimento com uma gota de solução aquosa de azul de metileno.

- Examinar o sedimento entre lâmina e lamínula ao microscópio.

## **OBSERVAÇÕES**

O sedimento seco, não corado pelo azul de metileno, pode ser corado pelo método de Giemsa.

Quando necessário, remeter a um laboratório para identificação, executar somente as duas primeiras etapas.

**Quadro 8.**Características diferenciais das microfilárias sanguíneas

<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b><i>Dirofilaria immitis</i></b>	<b><i>Acanthocheilonema (Dipetalonema) reconditum</i></b>	<b><i>Setaria</i> spp.</b>
<b>COMPRIMENTO (µm)</b>	313	276	280
<b>LARGURA(µm)</b>	6-7	4-5	7
<b>GANCHO CEFÁLICO</b>	ausente	presente	ausente
<b>BAINHA</b>	ausente	ausente	presente
<b>CAUDA</b>	reta	curva	reta
<b>MOBILIDADE</b>	maior		
<b>HOSPEDEIRO</b>	Cão /gato		

## Técnicas: Passo a Passo

Figura 12. Método de Knott Modificado



1. Colocar 1ml de sangue com anticoagulante em um tubo.



2. Adicionar 10ml de formalina.



3. Agitar suavemente.



4. Centrifugar a 1500 rpm durante 5 min.



5. Desprezar o sobrenadante.



6. Misturar o sedimento com uma gota de solução aquosa de corante.



7. Examinar o sedimento entre lâmina e lamínula ao microscópio.

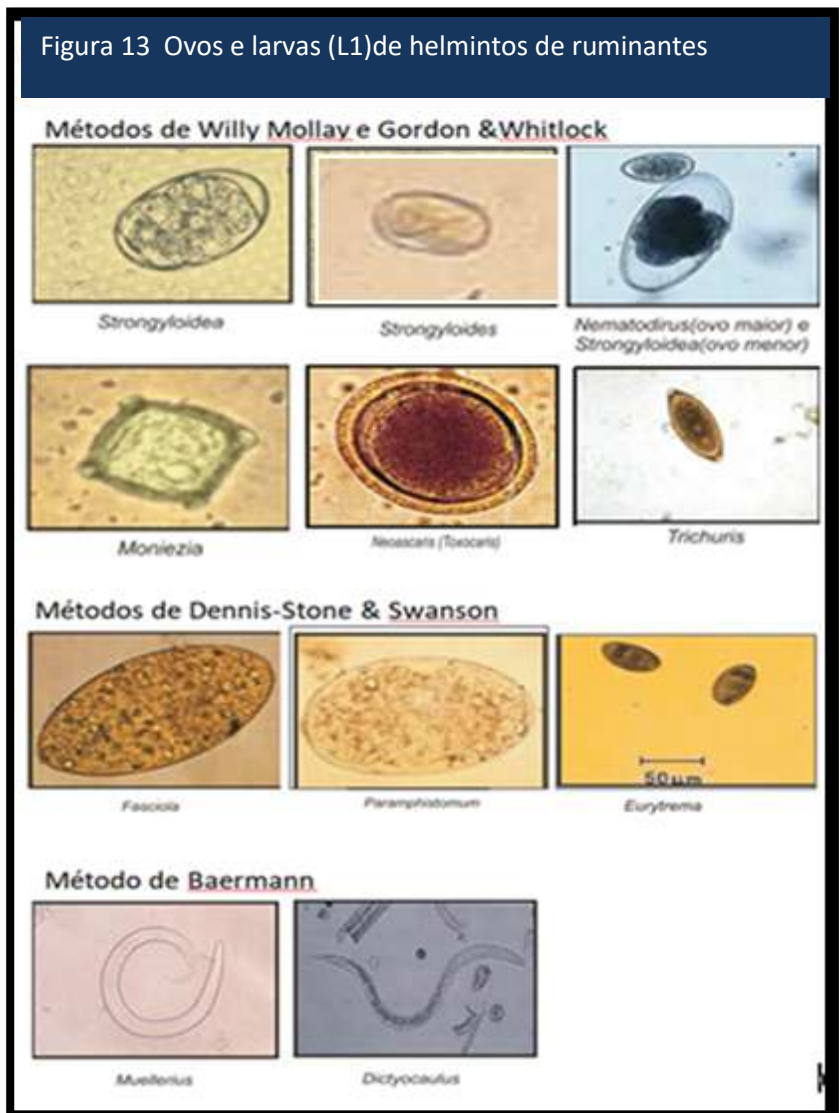
Fonte: MATTOS; HOFFMAN. 2020

**IDENTIFICAÇÃO DE  
OVOS E LARVAS  
DE HELMINTOS**

**Quadro 9 Características dos ovos de helmintos de ruminantes**

Genero/espécie	Tamanho (µm)	Características
<b>NEMATÓDEOS</b>		
<i>Nematodirus</i>	153-260 x 67-120	Apresenta mórula no centro do ovo
<i>Strongyloides</i>	40-60 x 32-40	Ovo contendo uma larva no seu interior
<i>Strongyloidea</i>	65-100 x 34-50	Ovo com morula
<i>Trichuris</i>	70-80 x 30-42	bioperculado
<i>Neoscaris</i>	75-95 x 60-75	arredondado
<b>TREMATÓDEOS</b>		
<i>Fasciola hepatica</i>	130-145 x 70-90	Amarelo claro Cheio de grânulos finos Núcleo descentralizado
<i>Paramphistomum cervi</i>	148 x 77	Esbranquiçado Poucos grânulos, porém maiores. Núcleo centralizado
<i>Eurytrema</i>		Castanho escuro. Ovos são pequenos e arredondados com embrião e dois granulos
<i>E. pancreaticum</i>	50-80 x 35-40	
<i>E. coelomaticum</i>	42-53 x 23-38	
<b>CESTÓDEOS</b>		
<i>Moniezia</i>	65-75 um em diametro	

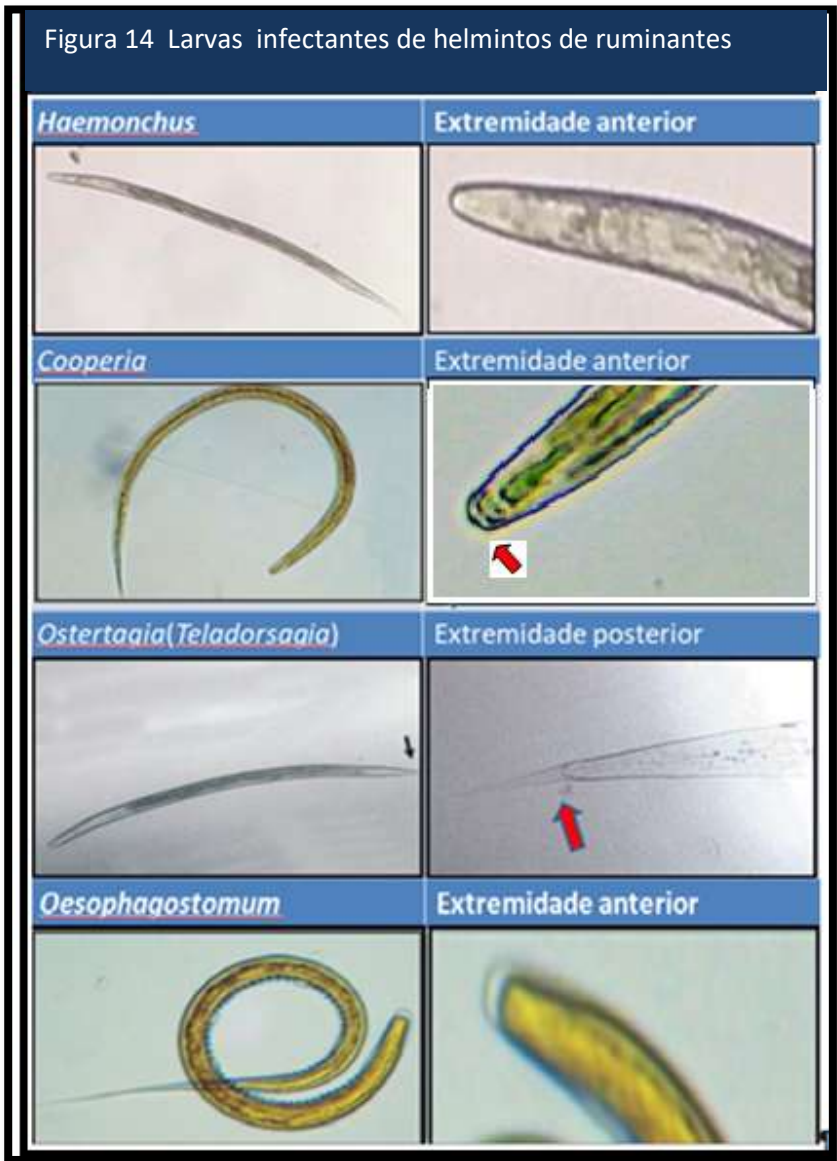
Figura 13 Ovos e larvas (L1)de helmintos de ruminantes



### Quadro 10. Identificação de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ruminantes

ESPÉCIE	CAUDA DA BAINHA	EXTREMIDADE ANTERIOR	CÉLS INTEST	COMP. TOTAL DA LARVA (µm)
<i>Strongyloides</i>	CURTA Sem bainha Bífida	Esôfago 1/3 do corpo	-	524-710
<i>Trichostrongylus</i>	CURTA Obtusa	Afilada	16	619-762
<i>Ostertagia</i>	CURTA Visibilidade entre cutícula interna e externa	Chanfrada	16	784-928
<i>Haemonchus</i>	MÉDIA	Afilada Com sombreamento	16	650-866
<i>Cooperia</i>	MÉDIA	Quadrada 2 corpos refrigentes	16	666-924
<i>Bunostomum</i>	MÉDIA	Cápsula pequena, em forma de funil Bulbo esofágico na parte distal Mais coradas	16	500-583
<i>Chabertia</i>	LONGA		24-32 retangulares	710-790
<i>Oesophagostomum</i>	MUITO LONGA	Visibilidade da demarcação entre cutícula interna e externa	16-24 triangulares ou pentagonais	726-923
<i>Nematodirus</i>	MUITO LONGA	Cultura de 10 dias		

Figura 14 Larvas infectantes de helmintos de ruminantes





**Quadro 11 Características dos ovos de helmintos de caninos e felinos**

Genero/espécie	Tamanho (( $\mu$ m)	Características
<b>NEMATÓDEOS</b>		
<i>Ancylostoma</i>	52-79 x 28-58	Ovo com morula
<i>Uncinaria</i>	71-92 x 35-58	
<i>Toxocara</i>	<i>T.canis</i> 85-90 x 75	Estrutura interna escura ovo arredondado
	<i>T,cati</i> 65x75	
<i>Trichuris</i>	<i>T.vulpis</i> 72x90 x 32-40	bipoperculado
<b>TREMATÓDEOS</b>		
<i>Platynossoma</i>	34-50 x 20-35	Castanho escuro Ovos pequenos
<b>CESTÓDEOS</b>		
<i>Spirometra</i>	65-70 x 35-37	
<i>Dipylidium</i>	c/cápsula 120-200	
	Ovos 35-60	

Figura 15 Ovos e larvas de helmintos de caninos e felinos

Método de Willis-Mollay



Método de Dennis-Stone&Swanson modificado





Figura 16 Ovos de helmintos de equinos Método de Willis Mollay



Adaptado por Mattos(2020)

## MATERIAL DE LABORATÓRIO

- Agulhas
- Agulhas histológicas
- Alcoômetro
- Algodão
- Balança para pesar fezes
- Balança para peso vivo
- Balança para tubos de centrífuga
- Baldes plásticos graduados de 10 litros
- Bandejas metálicas.
- Barbante
- Bastão de vidro
- Becker (250-300-500mL)
- Borrifador
- Caixas de isopor
- Cálices de sedimentação graduados (250-500-1000mL)
- Câmara de McMaster

## **MATERIAL DE LABORATÓRIO(cont.)**

- Centrífuga
- Contador manual
- Conta-gotas (5-50mL)
- Copo de Borrel
- Copos.
- Densímetro.
- Estereomicroscópio
- Estufa
- Etiquetas ou pincel atômico
- Facas
- Fita adesiva transparente
- Frasco de Erlenmeyer (100 mL), com duas marcas: uma a 56 mL e outra a 60 mL
- Frascos com tampa (80-100mL)
- Frascos plásticos ou vidro com tampa (500- 1000 mL)
- Funil

## **MATERIAL DE LABORATÓRIO(continuação)**

- Gaze
- Gelo
- Grampo ou arame
- Jarras plásticas (500-1000mL)
- Lâminas de microscopia e de dimensão 4x7cm
- Lamínulas ( 20x20mm; 22x22mm;18x18mm; 18x24mm; 24x32mm)
- Medidor de pH
- Microscópio
- Palito ou estilete
- Pérolas de vidro (3-4 mm de diâmetro)
- Pinça com ponta fina
- Pinça com ponta reta
- Pinça dente de rato
- Pinça hemostática
- Pipeta de Pasteur

## **MATERIAL DE LABORATÓRIO(continuação)**

- Pipeta de Pasteur com pera de borracha e abertura de 1,5 mm de diâmetro
- Pipetas (0,5-10 mL)
- Placa de Petri, riscada em linhas paralelas, com lápis diamante
- Placas de Petri (diâmetro 7,5-50-100-150cm x altura 20mm)
- Proveta graduada (25-50-100-500-1000mL)
- Refrigerador
- Relógio despertador
- Rolha de borracha
- Sacos plásticos ou frascos boca larga e com tampa
- Seringa com agulha
- Serragem de madeira de pinho, bolinhas de isopor ou erva-mate lavada e seca
- Tamis
- Tamises com telas metálicas de 100, 180, 200 e 250 malhas/polegada com abertura de 174, 96, 87 e 65 $\mu$ , respectivamente

## **MATERIAL DE LABORATÓRIO(continuação)**

- Telas metálicas de 40-50 malhas/polegada
- Tesoura de cortar gesso ou enterótomo
- Tesoura de ponta fina
- Tesoura de ponta romba
- Tubo de ensaio (5-20mL)
- Tubos de centrifugação
- Tubos de Vacutainer com adaptador



## **REFERÊNCIAS**

**BENBROOK, E. A., SLOSS, M. W. Parasitologia Clínica Veterinária.** México. Continental. 1965. 250p.

**HOFFMANN, R. P. Diagnóstico de Parasitismo Veterinário.** Sulina: Porto Alegre. 1987. 156p.

**MATTOS, M. J. T.;HOFFMANN, R .P. Diagnóstico Laboratorial em Helmintoses.** 1ed. UFRGS. Porto Alegre, RS. 2010. 63 p.

**MATTOS, M.J.T.; HOFFMANN,R.P. Helmintoses de equídeos.** 2020.

**MATTOS,M.J.T.;HOFFMANN, R.P. Helmintoses de suínos.**2019.

**MATTOS, M. J. T.;HOFFMANN, R .P. Diagnóstico Laboratorial em Helmintoses.** 5ed. UFRGS. Porto Alegre, RS. 2020. 113 p.

**MATTOS, M. J.Manual de diagnóstico laboratorial das helmintoses dos animais domésticos e silvestres.** E.book 2021.

SLOSS,M.W., ZAJAC,A.M., KEMP,R.L. **Parasitologia Clínica Veterinária**. 6ed. Ed.Manole Ltda.1999.198p.

THIENPONT,D. et al. **Diagnosing Helminthiasis through Coprological Examination**. Belim. Janssen Research foundation, Pitmann-Moore, 1979. 187p.

UENO,H., GONÇALVES,P.C. **Manual para Diagnóstico das Helmintoses de Ruminantes**. 4ed. Japan International Cooperation 1998.