

Comparação de Métodos Parasitológicos tendo como Referencial o Método de Faust para a Pesquisa de Cistos de Protozoários

Geny Aparecida Cantos¹, Marcos Galvão², Jivago Linécio²

1 - Profa. do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) - Departamento de Análises Clínicas

2 - Alunos da graduação do curso de Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Resumo

Comparação de métodos parasitológicos tendo como referencial o Método de Faust para a pesquisa de cistos de protozoários

Os métodos parasitológicos devem ser realizados de maneira apropriada, buscando uma maior sensibilidade e especificidade na detecção dos parasitas intestinais. Em um laboratório de rotina é importante fazer mais de um método de concentração para detectar as formas parasitárias, principalmente quando há baixa carga parasitária. Neste trabalho realizou-se um estudo comparativo para avaliar a sensibilidade dos métodos de Ritchie, Lutz e Faust para detecção de enteroparasitas de amostras oriundas do Hospital Universitário do município de Florianópolis-SC, as quais foram processadas e analisadas pelos referidos métodos no Laboratório de Parasitologia Clínica da Universidade Federal de Santa Catarina. De um total de 310 amostras processadas e analisadas pelos referidos métodos, 28% foram positivas. Pelos resultados obtidos, o método de Faust apresentou uma sensibilidade nitidamente superior aos métodos de Lutz e Ritchie para a pesquisa de cistos de protozoários, havendo diferença significativa entre Faust e Lutz para cistos de protozoários, especialmente para *Entamoeba hartmanii* ($p < 0,01$) e *Endolimax nana* ($p < 0,05$). Conclui-se que para obter-se resultados coproparasitológicos mais confiáveis é importante que os laboratórios clínicos realizem o método de Faust e que sejam associados outros métodos como Lutz ou Ritchie para ovos de helmintos, assim como um método específico para larvas de helmintos.

Palavras-chave: Parasitas, métodos parasitológicos, comparação de métodos, Faust, Ritchie, Lutz

Summary

Comparison among parasitological methods having as reference Faust method to search protozoan cysts

The parasitological methods must be conducted in an appropriate manner, seeking greater sensitivity and specificity in the detection of intestinal parasites. In a laboratory routine it is important to do more than one concentration method to detect the parasitic forms, especially when there is low parasite. In this work has been made a comparative study to assess the sensibility between the methods of Ritchie, Lutz and Faust to detect enteroparasites of samples from the University Hospital of the city of Florianopolis, SC, which were processed and analyzed by these methods in the parasitological laboratory of Federal University of Santa Catarina. Of a total of 310 samples analyzed and processed by these methods, 28% were positive. By the results obtained in this study, Faust Method showed a sensibility clearly higher than Lutz and Ritchie methods, having significant difference among Faust and Ritchie to protozoan cysts, specially to *Entamoeba hartmanii* ($p < 0,01$) and *Endolimax nana* ($p < 0,05$). We conclude that in order to obtain more reliable coproparasitological results, it is important that the clinical laboratories put into practice Faust method and must be associated with other methods like Lutz or Ritchie to helminths eggs, as well as a specific method to helminths larvae.

Keywords: Parasites, parasitological methods, comparison of methods, Faust, Ritchie, Lutz

Introdução

As infecções parasitárias representam um dos principais problemas de saúde pública, especialmente em países tropicais, principalmente quando se considera o dano que as mesmas determinam no desenvolvimento físico e mental, particularmente das crianças. Já em adultos o parasitismo intestinal está associado em especial a problemas gastrintestinais, anemia e desnutrição (1, 17).

O diagnóstico coproparasitológico das parasitoses intestinais ainda é o recurso laboratorial mais utilizado, por ser de fácil execução e baixo custo (29). Os métodos de concentração mais utilizados são: a) Faust - baseia-se no uso de uma solução de sulfato de zinco a 33% e densidade 1,180 g/ml (8); b) Lutz - baseia-se na sedimentação das estruturas parasitárias em água; c) Ritchie - utiliza-se de uma centrifugo-sedimentação em um sistema formalina-éter; d) Baermann e Rugai -

fundamenta-se no termohidrotropismo de larvas de helmintos, especialmente *Strongyloides stercoralis* (7).

O método de Lutz é um método clássico, muito utilizado para o diagnóstico de parasitas intestinais, sendo indicado, sobretudo, para ovos pesados de helmintos, tais como *Ascaris lumbricoides* (ovos infecundos), *Taenia* sp. e *Schistosoma mansoni*. Contudo, quando a carga parasitária é baixa, a grande quantidade de detritos fecais no sedimento dificulta o diag-

nóstico de estruturas menores como os cistos de protozoários.

Por outro lado, apesar dessa técnica dispensar centrifugação e reagentes, o uso da água fria não propicia uma boa migração das larvas, exceto em casos de infecção maciça, sendo, portanto, ineficaz para diagnóstico de larvas de helmintos em casos de baixa parasitemia (16).

Para a pesquisa específica de larvas de helmintos, além dos métodos de Baermann e Rugai, outros mais sensíveis têm sido relatados e sugeridos na literatura, como por exemplo o método de placa em ágar (3, 10, 13). Contudo, este último método tem a desvantagem de ser mais trabalhoso e ter um maior custo e provavelmente por isso não tem sido utilizado nos laboratórios clínicos.

O método de Faust é uma técnica rápida e prática e utiliza pouco espaço na bancada por usar apenas tubos de ensaio. Tem a desvantagem e a inadequação para amostras fecais que contenham grande quantidade de gorduras, sendo especialmente útil no diagnóstico de cistos de protozoários e ovos leves de helmintos, pois separa esses elementos do excesso de detritos (9, 11, 29), podendo ser aplicado também com amostras de fezes conservadas (7).

Por outro lado, ovos de maior densidade geralmente são pouco observados neste método (7).

As diferenças encontradas nos diversos trabalhos da literatura podem também estar relacionadas a uma não padronização do método, principalmente ao que se refere à densidade da solução flutuadora. Alguns cuidados devem ser tomados para que o método seja realizado corretamente, como: a lâmina deve ser preparada em 15 minutos, para que não haja decantação das estruturas parasitárias; deve-se evitar manipular bruscamente o tubo; a solução das fezes deve ser homogeneizada; a alça a ser utilizada deve ser padronizada e de boa qualidade.

Por outro lado, a solução de sulfato de zinco, dentro das especificações já mencionadas, leva a flutuação de formas

parasitárias menos densas, ao mesmo tempo em que os resíduos das fezes sedimentam no fundo do tubo, permitindo desta forma recuperar a maioria dos cistos. Porém, o material deve ser examinado imediatamente, pois o contato com a solução de sulfato de zinco pode deformar cistos de protozoários ou ovos de helmintos de casca fina (22).

A película superficial deve ser removida em 5 minutos após a centrifugação, pois quanto mais tempo o organismo permanecer em contato com o sulfato de zinco, maior a distorção das estruturas (11), levando profissionais menos experientes a cometerem erros, muitas vezes não conseguindo identificá-las.

Machado *et al*, (14) considera que a instabilidade de formas parasitárias como da *G. lamblia* nas fezes proporciona redução do percentual de detecção deste protozoário pelos métodos microscópicos e que o método de Faust melhora os resultados para este protozoário. Segundo esses autores, este método continua sendo uma boa escolha para o diagnóstico da giardíase, uma vez que em seus estudos os resultados encontrados para este parasita foi similar à técnica de Elisa.

Em relação ao método de Ritchie, os resultados dos espécimes fecais obtidos por este método são consideravelmente melhores em relação à técnica de Lutz (3, 11). Este método é empregado clinicamente na investigação de ovos de helmintos, larvas e cistos de protozoários e possui uma vantagem em relação ao método de Faust, porque permite um diagnóstico mais assertivo para ovos pesados. Entretanto, o uso do éter, reagente necessário para a execução da técnica, utilizado para a retirada de gordura da amostra, é uma substância explosiva e altamente tóxica para o sistema respiratório, que, em caso de intoxicação, pode causar depressão cardiovascular (20).

Outro método que alguns laboratórios vêm utilizando é *Coprotest*[®], que é um método comercial, vendido na forma de kits, consistindo em uma modificação do método de Ritchie. Tem sido também usado na detecção de ovos e

larvas de helmintos, cistos e oocistos de protozoários (18). Contudo, este método tem a limitação na detecção de ovos helmintos, em amostras de indivíduos com baixa carga parasitária, podendo levar a uma determinação subestimada da prevalência real das parasitoses, quando diagnosticadas. Desta forma, não é aconselhável usá-lo como único método de concentração em uma rotina laboratorial quando as cargas parasitárias são baixas (18).

Outros métodos ainda destacam-se na prática clínica por serem sensíveis e específicos em função da suspeita clínica, como o método de Willis para ancilostomídeos e *Trichuris trichiura* (7) e o método da fita adesiva para *Enterobius vermicularis* (23).

Pelo exposto percebe-se que a realização de diferentes métodos parasitológicos torna-se necessária, tendo em vista a variabilidade morfológica e biológica apresentada pelos parasitas (18).

Contudo, o que se percebe é que a maioria dos laboratórios de análises clínicas, principalmente os laboratórios públicos, utiliza somente o método de Lutz como rotina, pelo fato de ser um método econômico e dispensar a centrifugação (4). A literatura é clara quando salienta a importância de se realizar mais de um método de concentração para detectar formas parasitárias de cistos de protozoários, de ovos e larvas de helmintos, principalmente quando há uma baixa carga parasitária (7).

Assim, este trabalho tem como enfoque esclarecer vantagens inerentes de se utilizar simultaneamente o método de Faust (para detecção de protozoários) com outras metodologias, de forma que se possam reduzir os falsos negativos e se obter maior segurança e confiabilidade nos resultados dos exames parasitológicos.

Materiais e Métodos

Amostra

O presente trabalho foi realizado com 310 amostras de fezes oriundas

do Hospital Universitário no município de Florianópolis, Estado de Santa Catarina, no período de agosto de 2005 a dezembro de 2007. Essas amostras não tinham nenhuma indicação quanto a sua origem, ou seja, as mesmas foram identificadas por um número, independente de serem positivas ou não.

Foram analisadas apenas fezes formadas, evitando o uso de fezes diarreicas e mucosas para se obter uma melhor homogeneidade, assim como uma maior concentração (18).

Exame parasitológico de fezes

As fezes colhidas foram processadas pelas técnicas de Lutz, Faust e Ritchie (7). Para a realização das técnicas, aproximadamente 1 grama de fezes foi diluído em 50 mL de água, sendo esta filtrada para um cálice de sedimentação.

Parte da suspensão filtrada foi colocada em dois diferentes tubos de ensaio, tubos cônicos para realização dos métodos de Faust e Ritchie. Na outra parte da suspensão adicionou-se mais 150 mL de água para a realização do método de Lutz. Para cada método foi examinada uma lâmina do mesmo material.

Foram analisadas as frequências de parasitas nas 310 amostras pelas diferentes técnicas e realizada também uma comparação entre as amostras positivas quanto ao número de cistos de protozoários, ovos e larvas de helmintos.

Para a análise estatística foi usado o teste exato de Fisher no programa Prism 4, para verificar a relação entre os métodos para cada parasita, assim como a sensibilidade, com um intervalo de confiança de 95% e o valor de $p < 0.05$ foi considerado significativo.

Resultados e Discussão

Observando-se os resultados dos exames de fezes pelos três métodos realizados neste trabalho, pode-se notar que de um total de 310 amostras, 87 (28%) eram positivas. Resultados

estes que quando comparados ao trabalho de NOLLA & CANTOS (23) mostraram-se inferiores, provavelmente porque os referidos autores utilizaram leitura em duplicata e uma gama maior de técnicas na detecção de parasitas intestinais.

Contudo, o parasitismo encontrado neste trabalho foi superior aos achados por MARQUES *et al* (2005) os quais utilizaram os métodos de Faust, Lutz e Baermann, realizado em Concórdia, Santa Catarina.

Neste trabalho grande parte das amostras positivas apresentava uma ou mais espécies de parasitas, sendo que 65 (20,9%) eram monoparasitadas e que 23 (7%) eram multiparasitadas. Estes resultados foram compatíveis com os resultados encontrados em NOLLA & CANTOS (23) em Florianópolis e BLATT & CANTOS (3) em Itajaí (dados não tabulados).

A infecção por protozoários foi mais expressiva que por helmintos: 74 (23,9%) e 23 (7,4%), respectivamente. Esses resultados estão de acordo com a literatura (15, 23) e podem sugerir que a população em estudo esteja realizando uma automedicação restrita para helmintos.

Evidências informam que, além da falha quanto à abrangência no que tange as protozooses, o uso constante de anti-helmínticos pode

levar à redução de imunoglobulinas secretadas no intestino, aumentando a suscetibilidade do indivíduo a certas doenças como diabetes do tipo I, asma e doenças inflamatórias (21). O mais indicado seria realizar o exame parasitológico garantindo proteção individual da saúde e bloqueando o processo de disseminação.

A Tabela 1 mostra a distribuição de parasitas encontrados pelos métodos de Lutz, Faust e Ritchie para protozoários e helmintos. Os protozoários detectados foram *Endolimax nana* e *Entamoeba coli* (6,1%), *Blastocystis hominis* (5,2%), *Giardia lamblia* (3,9%), *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* (2,9%), *Entamoeba hartmanni* (2,5%) e *Iodamoeba butshilii* (1,9%). Estes resultados mostraram-se semelhantes quando comparados ao trabalho de Machado *et al* (15).

Os helmintos encontrados foram: *Ascaris lumbricoides* (1,6%), *S. stercoraris* (1,3%), *Enterobius vermicularis* (1,3%), ancilostomídeos (1%), *Taenia sp* (1%), *T. trichiura* (1%), *Hymenolepis nana* (0,66%).

Apesar da prevalência de *A. lumbricoides* ter sido baixa neste trabalho, ele continua apresentando uma alta prevalência em comunidades pobres de países como a África, Brasil, Vietnã e México (28). Estudos como os de

Tabela 1. Resultados dos testes coprológicos em 310 amostras fecais analisadas.

Parasitas	Lutz		Faust		Ritchie	
	n	%	n	%	n	%
Protozoários						
<i>Endolimax nana</i>	13	4,2	19	6,1	15	4,8
<i>Entamoeba coli</i>	18	5,8	19	6,1	18	5,8
<i>Blastocystis hominis</i>	14	4,5	16	5,2	16	5,2
<i>Giardia lamblia</i>	7	2,2	12	3,9	11	3,5
<i>Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar</i>	6	1,9	9	2,9	6	1,9
<i>Entamoeba hartmanni</i>	2	0,6	8	2,5	5	1,6
<i>Iodamoeba butshilii</i>	2	0,6	6	1,9	3	1
Total de protozoários	62	20	89	28,7	74	23,9
Helmintos						
<i>Ascaris lumbricoides</i>	5	1,6	4	1,3	5	1,6
<i>Strongyloides stercoraris</i>	4	1,3	4	1,3	5	1,6
<i>Enterobius vermicularis</i>	4	1,3	4	1,3	4	1,3
Ancilostomídeos	0	0	3	1	1	0,3
<i>Taenia sp</i>	3	1	0	0	3	1
<i>Trichuris trichiura</i>	1	0,6	3	1	2	0,6
<i>Hymenolepis nana</i>	2	0,3	2	0,6	2	0,6
Total de helmintos	19	6,1	20	6,4	22	7,1

Tabela 2. Resultados dos testes coprológicos em relação ao total de amostras positivas de cada parasita

Parasitas	Lutz		Faust		Ritchie		Total de parasitas encontrados (n = 114)
	n	%	n	%	n	%	
Protozoários							
<i>Endolimax nana</i>	13	68,42	19*	100	15	78,95	19
<i>Entamoeba coli</i>	18	94,74	19	100	18	94,74	19
<i>Blastocystis hominis</i>	14	87,5	16	100	16	100	16
<i>Giardia lamblia</i>	7	58,33	12	100	11	91,67	12
<i>Entamoeba histolytica</i> <i>Entamoeba dispar</i>	6	66,67	9	100	6	66,67	9
<i>Entamoeba hartmanni</i>	2	25	8**	100	5	62,5	8
<i>Iodamoeba butschlii</i>	2	33,33	6	100	3	50	6
Total de protozoários	62	69,66	89	100	74	83,15	89
Helmintos							
<i>Ascaris lumbricoides</i>	5	100	4	80	5	100	5
<i>Strongyloides stercorariis</i>	4	80	4	80	5	100	5
<i>Enterobius vermicularis</i>	4	100	4	100	4	100	4
<i>Ancilostomídeos</i>	0	0	3	100	1	33,33	3
<i>Taenia sp</i>	3	100	0	0	3	100	3
<i>Trichuris trichiura</i>	1	33,33	3	100	2	66,67	3
<i>Hymenolepis nana</i>	2	100	2	100	2	100	2
Total de helmintos	19	76	20	80	22	88	25

Teste exato de Fisher, quando comparado o método de Faust em relação ao método de Lutz (* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$).

Tabela 3. Comparação entre métodos para a detecção de parasitas intestinais em amostras analisadas (n = 114)

Métodos diagnósticos	Helmintos			Protozoários			
	Positivos	Proporção observada	Valor de p*	Métodos diagnósticos	Positivos	Proporção observada	Valor de p*
Lutz	19	0,76	1	Lutz	62	0,697	<0,001***
Faust	20	0,8		Faust	89	1	
Lutz	19	0,76	0,463	Lutz	62	0,697	0,051
Ritchie	22	0,88		Ritchie	74	0,832	
Ritchie	22	0,88	0,702	Ritchie	74	0,832	<0,001***
Faust	20	0,8		Faust	89	1	

Teste de exato de Fisher, valores estatísticos significantes: *** $p < 0,001$

Tabela 4. Avaliação da sensibilidade dos métodos de Lutz, Ritchie e Faust para cistos de protozoários em 310 amostras analisadas

Protozoário	Lutz (CI 95%)	Ritchie (CI 95%)	Faust (CI 95%)
<i>Endolimax nana</i>	68.42 (43.45-87.42)	78.95 (54.43-93.95)	100.00 (82.35-100.00)
<i>Entamoeba coli</i>	94.74 (73.97-99.87)	94.74 (73.97-99.87)	100.00 (82.35-100.00)
<i>Blastocystis hominis</i>	87.50 (61.65-98.45)	100.00 (79.41-100.00)	100.00 (79.41-100.00)
<i>Giardia lamblia</i>	58.33 (27.67-84.83)	91.67 (61.52-99.79)	100.00 (73.54-100.00)
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	66.67 (29.93-92.51)	66.67 (29.93-92.51)	100.00 (66.37-100.00)
<i>Entamoeba hartmanni</i>	25.00 (3.18-65.09)	62.50 (24.49-91.48)	100.00 (63.06-100.00)
<i>Iodamoeba butschlii</i>	33.33 (04.33-77.72)	50.00 (11.81-88.19)	100.00 (54.07-100.00)

Tabela 5. Avaliação da sensibilidade do método de Lutz, Ritchie e Faust para helmintos em 310 amostras provenientes de Florianópolis, SC, 2007

Helminto	Lutz (CI 95%)	Ritchie (CI 95%)	Faust (CI 95%)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	100.00 (47.82-100.00)	100.00 (47.82-100.00)	80.00 (23.36-99.49)
<i>Ancilostomídeos</i>	-	33.33 (0.84-90.57)	100.00 (29.24-100.00)
<i>Taenia sp</i>	100.00 (29.24-100.00)	100.00 (29.24-100.00)	-
<i>Trichuris trichiura</i>	33.33 (0.84-90.57)	66.67 (9.43-99.16)	100.00 (29.24-100.00)
<i>Enterobius vermicularis</i>	100.00 (39.76-100.00)	100.00 (39.76-100.00)	100.00 (39.76-100.00)
<i>Strongyloides stercorariis</i>	80.00 (28.36-99.49)	100.00 (47.82-100.00)	80.00 (28.36-99.49)

NEVES *et al.* (22) afirmam que com o avanço dos anos, há uma tendência para a diminuição progressiva nas taxas de incidência e de prevalência de enteroparasitas em adultos, explicada pela mudança de hábitos e desenvolvimento de uma imunidade progressiva de longa duração contra os parasitas (12).

Na Tabela 2 calculou-se o percentual de cada parasita em relação ao total de amostras positivas. Pode-se notar que, para todos os protozoários, o método de Faust mostrou-se superior ao método de Ritchie e de Lutz. Foi realizado o teste exato de Fisher para verificar se a diferença entre os resultados dos diferentes métodos realizados era significativa ($p < 0,05$).

Os resultados mostraram que o método de Faust foi o mais eficiente para pesquisa de cistos de protozoários, porém só houve diferença significativa entre Faust e Lutz, e para cistos de *Entamoeba hartmanni* ($p < 0,01$) e *Endolimax nana* ($p < 0,05$). Porém, devido ao baixo número de amostras positivas, não se pode afirmar com certeza se não poderia haver também diferenças significativas para outros cistos de protozoários.

As diferenças encontradas entre os três métodos não foram significativas para helmintos. Pode-se notar que os ovos de *Taenia sp*, por serem pesados, foram menos detectados pelo método de Faust. De fato, esses ovos possuem em seu embrioforo blocos piramidais de quitina, o que os torna pesados, sendo, pois, necessário uma técnica de sedimentação (25).

Na Tabela 3 verificou-se a proporção de detecção dos métodos em relação ao total de parasitas encontrados. A totalidade de parasitas encontrados pelo método de Faust em relação ao total de parasitas encontrados pelo Lutz e Ritchie mostrou-se significativa somente em relação aos protozoários ($p < 0,001$).

Como o método de Faust apresenta um campo de visão com menos detritos, os cistos de protozoários foram mais facilmente visualizados. Assim,

pelos resultados apresentados, o método de Faust foi o que apresentou melhor escolha para o diagnóstico das protozooses intestinais.

A sensibilidade entre os métodos foi avaliada pelo teste de Qui-Quadrado (X^2), considerando um intervalo de confiança de 95%. Em situações nas quais a frequência observada foi baixa, foi utilizado o teste exato de Fisher. A Tabela 4 mostra que o método de Faust apresentou uma sensibilidade (positividade) nitidamente superior aos métodos de Lutz e Ritchie para a pesquisa de cistos de protozoários. Assim, esses resultados reforçam que o método de Faust é a melhor escolha no diagnóstico de cistos de protozoários, pois além de ser método barato

e de rápida e fácil execução, permite a melhor visualização dessas estruturas parasitárias.

A Tabela 5 mostra que para ovos e larvas de helmintos não houve diferença significativa entre eles. Os grandes intervalos de confiança para a sensibilidade, especialmente em helmintos, se devem ao fato do número de amostras positivas ser pequeno e, assim, quanto menor o número de amostras maior a margem de erro.

Conclusão

O método de Faust foi superior ao método de Ritchie e Lutz para diagnóstico de protozoários intestinais.

Dado sua eficiência, simplicidade e rapidez de execução recomenda-se que o mesmo seja utilizado na rotina clínica nos laboratórios que realizam exames parasitológicos.

Entretanto, para que tenhamos um resultado mais preciso, em relação a outros enteroparasitas, é importante que haja combinações de métodos de concentração, a fim de aumentar o número de casos positivos.

Correspondências para:

Profa. Dra. Geny Aparecida Cantos
geny@ccs.ufsc.br

Referências Bibliográficas

1. Aguiar JIA, Gonçalves A, Q, Sodre, F. C. et al. Protozoários e helmintos intestinais entre índios Terena do Estado do Mato Grosso do Sul: alta prevalência de *Blastocystis hominis*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 40(6): 631-634. 2007.
2. Barr SC, Bowman DD, Erb HN. Evaluation of two test procedures for diagnosis of giardiasis in dogs. *American Journal Veterinary Res*, 53 (11):35-42, 1992.
3. Blatt JM, Cantos GA. Evaluation of techniques for the diagnosis of *Strongyloides stercoralis* in human immunodeficiency virus (HIV) positive and HIV negative individuals in the city of Itajaí, Brazil. *Braz J Infect Dis*, 7(6), 2003.
4. Cantos GA, Lima LM, Coelho MPP, Delgado RC, Silva C, Machado V. Ocorrência de *Ascaris lumbricoides* em pacientes atendidos no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, comparando o método de Ritchie com o método de Lutz. *Revista Ciências da Saúde, Florianópolis*, 15(1 e 2): 47-58, 1996.
5. Carlesso AM, Simonetti AB, Artuso GL, Rott MB. Isolamento e identificação de amebas de vida livre potencialmente patogênicas em amostras de ambientes de hospital público da cidade de Porto Alegre, RS. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 40(3), 2007.
6. Carleton RE, Tolbert MK. Prevalence of *Dirofilaria immitis* and gastrointestinal helminths in cats euthanized at animal control agencies in northwest Georgia. *Veterinary Parasitology*, 119(4): 319-326, 2004.
7. De Carli GA. *Parasitologia Clínica - Seleção de Métodos e Técnicas de Laboratório para o Diagnóstico das Parasitoses Humanas*. Editora Atheneu - São Paulo, Rio de Janeiro e Belo Horizonte, 2001.
8. Dryden MW. Comparison of common fecal flotation techniques for the recovery of parasite eggs and oocysts. *Veterinary Therapeutics*, 6(1): 15-28, 2005.
9. Dubey JP. Intestinal protozoa infections. *Veterinary Clinics of North América: Small Animal Practice*, 23(1): 37-55, 1993.
10. Freitas THP, Souza DAF. Corticosteróides sistêmicos na prática dermatológica. Parte I – Principais efeitos adversos. *An Bras Dermatol*. 82(1): 63-70. 2007.
11. Garcia LS, Bruckner DA. *Diagnostic Medical Parasitology*. Third edition. Asm Press, Washington, D.C. 1997. p.614-622
12. Hurtado-Guerrero AF, Alencar FH, Hurtado-Guerrero JC. Occurrence of enteroparasites in the elderly population of Nova Olinda do Norte, Amazonas, Brazil. *Acta Amaz. Manaus*, 35(4), 2005.
13. Intapan PM, Maleewong W, Wongsaroj T, Singthong S, Morakote N. Comparison of the Quantitative Formalin Ethyl Acetate Concentration Technique and Agar Plate Culture for Diagnosis of Human *Strongyloidiasis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(4): 1932-1933, 2005.
14. Machado RLD, Figueiredo MC, Frade AF et al. Evaluation of four techniques for diagnosis of *Giardia lamblia* in children's stool from Belém city, Pará State, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 34(1): 91-93, 2001.
15. Machado LD, Cantos GA, Ribeiro M, Silva MF, Santos JI, Andrade M. Frequência de Parasitas Intestinais em Amostras Fecais Examinadas em Laboratório Privado e Laboratório Público em Florianópolis, Brasil. *NewsLab*, 10(50): 126-132, 2002.
16. Mariano MLM, Carvalho SMS, Mariano APM, Assunção FR, Cazorla IM. Uma Nova Opção para Diagnóstico Parasitológico: Método de Mariano & Carvalho. *NewsLab*, 68, 2005.
17. Mascarini LM, Donalísio MR. Giardiasis and cryptosporidiosis in children institutionalized at daycare centers in the state of São Paulo. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 39(6), 2006.
18. Mendes CR, Teixeira ATLS, Pereira RAT et al. A comparative study of the parasitological techniques: Kato-Katz and coprotest®. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 38(2): 178-180. 2005.
19. Moitinho MLR, Ferreira CF. Avaliação de massas específicas de cistos de *Giardia duodenalis* e *Entamoeba coli*. *Rev. Ints. Med. Trop. São Paulo*, 31(5): 395-397, 1992.
20. Moura RM, Purchio A, Wada CS, Almeida TV. *Técnicas de Laboratório*. 3ª Edição. Editora Atheneu, São Paulo, 1994.
21. Mulcahy G, O'neill S, Donnelly S, Dalton Jp. Helminths at mucosal barriers — interaction with the immune system. *Adv Drug Deliv Rev* 2004; 56:853-68.
22. Neves DP, Melo AL, Genaro O, Linardi PM. *Parasitologia Humana*. 10a. edição. Editora Atheneu, São Paulo, p.406, 2002.
23. Nolla AC, Cantos GA. Prevalência de enteroparasitoses em manipuladores de alimentos, Florianópolis, SC. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 38(6):524-525, 2005.
24. Nolla AC, Cantos GA. Relação entre a ocorrência de enteroparasitoses em manipuladores de alimentos e aspectos epidemiológicos em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 21(2):641-645, 2005.
25. Oliveira IF. *Helmintíases Brasileiras*. Enciclopédia Biosfera, (1): 25-26, 2005.
26. Santos FLN, Cerqueira JLC, Soares NM. Comparison of the thick smear and Kato-Katz techniques for diagnosis of intestinal helminth infections. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 38 (2) 196-198, 2005.
27. Silva JO, Capuano DM, Takayanagi OM et al. Enteroparasitosis and onychomycosis in food handlers in the city of Ribeirão Preto, SP, Brasil. *Rev. bras. Epidemiol.*, 8(4): 385-392, 2005.
28. Silva MCM et al. Determination of *Entamoeba histolytica* infection in patients from Greater Metropolitan Belém, Pará, Brazil, by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for antigen detection. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 21(3), 2005.
29. Souza-Dantas LM, Bastos OPM, Brener B, Salomão M, Guerrero J, Labarthe NVT. Técnica de centrifugo-flutuação com sulfato de zinco no diagnóstico de helmintos gastrintestinais de gatos domésticos. *Ciência Rural*, Santa Maria, 37(3): 904-906, 2007.
30. Zimmer JF, Burrington DB. Comparison of Four Techniques of Fecal Examination for Detecting Canine Giardiasis. *Journal of American Animal Hospital Association*, 22(1): 161-167, 1986.