



FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Curso de Licenciatura em Biologia e Saúde

Trabalho de Culminação de Curso

Variante Estágio

**Tema: Técnicas de Diagnóstico de Parasitas Intestinais no Laboratório de Parasitologia Molecular
do Instituto Nacional de Saúde, período de Junho à Dezembro de 2023**

Autora:

Isaura Henriques Sueto

Maputo, Abril de 2025



FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Curso de Licenciatura em Biologia e Saúde

Trabalho de Culminação de Curso

**Tema: Técnicas de Diagnóstico de Parasitas Intestinais no Laboratório de Parasitologia Molecular
do Instituto Nacional de Saúde, Período de Junho à Dezembro de 2023**

Autora:

Isaura Henriques Sueto

Supervisores:

Msc. Esselina Fuel

Lic. Adilência Mataveia

Lic. Edelmira Fernando

Orientador:

dr. Justino Machai

Maputo, Abril de 2025

Agradecimentos

À Deus em primeiro lugar, pelo dom da vida e por ter colocado na minha vida pessoas maravilhosas, dotadas de inteligência e sabedoria para guiarem os meus passos dia pós dia;

À Direcção do Instituto Nacional de Saúde, por me terem aceite como estagiária;

À minha supervisora, Msc. Esselina Fuel, pelo apoio demonstrado ao longo da realização deste trabalho, principalmente pela paciência, pela forma carinhosa de ter dedicado o seu tempo na elaboração do trabalho;

As Co-supervisoras, dra. Adilência Mataveia e a dra. Edelmira Fernando por terem também dedicado o seu tempo na elaboração deste trabalho;

Ao meu orientador do estágio dr. Justino Machai, à Dra. Verónica Casmo, expresso a minha gratidão pelos ensinamentos transmitidos, pelo apoio moral e incentivo ao dr. Crizolgo Salvador pelas aulas de apoio, pela disponibilidade a esclarecer as dúvidas durante a realização do estágio;

Aos técnicos do laboratório de Parasitologia Molecular do INS pelo carinho, dedicação e paciência na transmissão dos seus conhecimentos;

Agradeço aos docentes do Departamento de Ciências Biológicas;

Agradeço também aos meus irmãos, em especial Eugénio Macaliha por ter acreditado em mim e enchido de coragem durante essa longa caminhada;

E a todos que, directa ou indirectamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Declaração de Honra

Declaro por minha honra que o presente relatório de estágio foi por mim realizado e que as técnicas representadas correspondem à mais perfeita realidade.

Maputo, Abril de 2025

(Isaura Henriques Sueto)

Dedicatória

Dedico este trabalho, aos meus pais (avós) Lucas Venâncio Macaliha que Deus a tenha e Gracinda Elias Macaliha por me terem criado como filha deles, por terem sido eles a ensinarem-me as primeiras palavras, pela educação, pelo amor incondicional, por incentivarem-me e por estarem sempre presentes na minha vida.

Ao meu companheiro Miguel Fernando Impuatua, pelo apoio incondicional, pela compreensão, pela força e coragem que sempre tem me dado.

Ao meu filho Kepler Miguel Impuatua, por dar luz à minha vida.

Resumo

As parasitoses intestinais são infecções causadas por protozoários ou helmintos que apresentam, pelo menos, uma fase de seu ciclo dentro do trato gastrointestinal humano, podendo ou não causar uma doença.

O presente relatório apresenta as actividades realizadas durante o estágio curricular para conclusão do curso, com duração de 420 horas úteis e teve como objectivos descrever as Técnicas de Diagnóstico laboratorial das Infecções Intestinais do Laboratório de Parasitologia Molecular no Instituto Nacional de Saúde (INS).

O estágio decorreu entre os meses de Junho à Dezembro de 2023 com duração de 6 meses, com uma carga horária diária de oito horas (8h), carga horária semanal de quarenta horas (40h) e carga horária total de quatrocentos e vinte horas (420h).

As amostras recebidas no Laboratório de Parasitologia Molecular do Instituto Nacional de Saúde eram provenientes do Centro de Investigação e Treino em Saúde da Polana Caniço, Hospital Central de Maputo e Hospital Geral José Macamo.

Foram recebidas no laboratório, um total de 113 amostras, das quais 25 eram amostras de sangue, e 88 eram amostras de fezes, e posteriormente processadas pelas técnicas de Kato-Katz, Ritchie e Ziehl-Neelsen.

Também fez-se análises de malária e anemia à cada paciente que era colhido as amostras para avaliar a ocorrência de Geo-helmintos em Mulheres grávidas nos distritos de Katembe e Moamba, Província de Maputo.

O estágio permitiu aprender muito mais sobre os conhecimentos práticos e conciliar com a teoria adquirida ao longo do curso, aquisição de habilidades técnicas e profissionais, pude ganhar capacidade de executar tarefas e adaptação de trabalhar em equipa.

Lista de Abreviatura, Siglas e Acrónimos

CISPOC:	Centro de Investigação e Treino em Saúde da Polana Caniço
DNMP:	Direcção Nacional de Medicina Preventiva
EDTA:	Ácido Etileno diamina tetra-acético
EPF:	Exame Parasitológico de Fezes
HCM:	Hospital Central de Maputo
HGJM	Hospital Geral José Macamo
INS:	Instituto Nacional de Saúde
LAC:	Laboratório de Análises Clínicas
LPM	Laboratório de Parasitologia Molecular
MISAU:	Ministério da Saúde
NSE	Não se encontram
OMS:	Organização Mundial da Saúde
PM:	Parasitologia Molecular
TDR:	Teste de Diagnóstico Rápido
WHO:	World Health Organization

Índice

Agradecimentos	I
Declaração de Honra.....	II
Dedicatória.....	III
Resumo	IV
Lista de Abreviatura, Siglas e Acrónimos	V
Lista de Tabelas	VIII
Lista de Figuras.....	VIII
1. Apresentação e Caracterização da Unidade de Estágio	1
1.1. Descrição do Local do Estágio.....	1
1.1.1. Localização Geográfica	2
1.1.2. Actividades Realizadas pelo INS.....	3
1.2. Programa do Estágio	4
1.3. Apoio Concedido por parte da Unidade de Estágio	6
2. Revisão Bibliográfica	7
2.1. Conceitos Gerais	7
2.2. Principais Agentes Etiológicos das Parasitoses Intestinais	7
2.2.1. Protozoários Intestinais.....	7
2.2.1.1. Características Morfológicas dos Principais Protozoários Intestinais.....	8
2.2.2. Helmintos Intestinais	8
2.2.2.1. Características Morfológicas dos Principais Helmintos Intestinais	9
2.3. Epidemiologia das Infecções Intestinais	10
2.4. Disseminação das Parasitoses Intestinais.....	12
2.5. Sintomatologia	13
2.6. Diagnóstico Laboratorial de Parasitas Intestinais	14
2.6.1. Técnicas de diagnóstico laboratorial	14
2.7. Tratamento	16

2.8. Prevenção e Controlo das Parasitoses Intestinais.....	17
3. Objectivos.....	19
3.1. Objectivo Geral	19
3.2. Objectivos Específicos	19
4. Lista de Materiais, Equipamentos e Reagentes usados	20
5. Actividades Desenvolvidas durante o período do Estágio	21
5.1. Processamento das amostras de fezes pela técnica de Kato-Katz	23
5.2. Processamento por Concentração formol-éter (ou Ritchie)	24
5.3. Processamento por Ziehl-Neelsen modificado.....	25
5.4. Conservação e armazenamento das Fezes.....	27
6. Outras actividades realizadas durante o período do Estágio	28
6.1. Preparo de soluções.....	28
6.1.1. Preparação do Álcool-ácido à 3%.....	28
6.1.2. Preparação de Verde Malaquita (solução mãe)	28
6.1.3. Preparação de Verde Malaquita para técnica de Kato-Katz	29
6.1.4. Preparação de Carbol-fuscina	29
6.2. Preparo dos esfregaços sanguíneos na mesma lâmina (gota espessa e estendida)....	29
6.3. Coloração das lâminas com o Giemsa.....	30
6.4. Controlo interno de qualidade do TDR -Malária	30
6.5. Registo de Informações e organização dos Ficheiros	31
6.6. Actividades realizadas fora do Laboratório (campo)	31
7. Limitações durante o Estágio	32
9. Referências Bibliográficas.....	34

Lista de Tabelas

Tabela 1: Plano de actividades realizadas durante o estágio.	5
Tabela 2: Sintomatologia das parasitoses causadas por alguns parasitas intestinais.	13
Tabela 3: Tabela de medicamentos.....	17
Tabela 4: Interpretação dos resultados para exame por Kato Katz.....	24
Tabela 5: Interpretação do resultado para exame de Ritchie	25
Tabela 6: Interpretação do resultado para exame de Ziehl-Neelsen modificado.....	26

Lista de Figuras

Figura 1: Ilustração do mapa do distrito de Marracuene, com a localização do INS	2
Figura 2: Cistos de protozoários intestinais	8
Figura 3: Helmintos intestinais	10

1. Apresentação e Caracterização da Unidade de Estágio

1.1. Descrição do Local do Estágio

O estágio teve lugar no Instituto Nacional de Saúde (INS), no Laboratório de Análises Clínicas (LAC), na repartição de Parasitologia Molecular (PM).

De acordo com Nhancale e Júnior (2018), o Instituto Nacional de Saúde (INS) surgiu no país em 1975, como uma instituição de pesquisa e Saúde que ficou sob égide do então Ministério da Saúde e Acção Social e integrado na Direcção Nacional de Medicina Preventiva (DNMP) do Ministério da Saúde (MISAU).

O INS era constituído pelos laboratórios de Malária, Parasitologia e de Tripanossomíase. Actualmente o Instituto Nacional de Saúde é a entidade de gestão, regulamentação e fiscalização das actividades relacionadas com a geração de evidência científica em saúde para garantia de uma melhor saúde e bem-estar, dotada de personalidade jurídica com autonomias administrativa e técnico-científica (Nhancale e Júnior, 2018).

Para além das actividades de pesquisa, o INS possui serviços laboratoriais especializados que exercem actividades de referência para o país, dos quais destacam-se os seguintes serviços laboratoriais (INS, 2024):

- ✓ Repartição de Virologia de Isolamento Viral (Infecções respiratórias agudas – IRAS; doenças diarréicas e doenças emergentes e zoonóticas);
- ✓ Repartição de Imunologia, qual fazem parte os laboratórios de Imunologia Celular (Imunofenotipagem linfocitária; marcação intracelular de citocinas e proliferação linfocitária) e Serologia Celular;
- ✓ Repartição de Estudos de Vectores;
- ✓ Repartição de Bacteriologia e Estudo de Patogenos de Alto Risco;
- ✓ Repartição de Virologia Molecular (Diagnóstico precoce infantil do HIV – crianças com idade inferior a 18 meses; carga viral e sequenciamento genético do HIV);
- ✓ Repartição de Parasitologia Molecular (Diagnóstico de parasitoses sanguíneas, urinárias e intestinais);
- ✓ Repartição de Serologia (Diagnóstico serológico de Sarampo, rubéola e HIV; Casos de HIV indeterminado, HIV-2, HTLV 1-2 e Hepatites B e C).

O laboratório de Parasitologia dedica-se ao diagnóstico e estudo de parasitoses sanguíneas, intestinais e vesicais. Serve-se de um laboratório de referência da malária. Realiza também

actividades de vigilância e diagnóstico especializado para malária. Actualmente implementa o programa de avaliação externa de qualidade da malária que inclui o fornecimento de painéis de proficiência em serologia (TDR) e microscopia da malária, com uma variante de observação cega. O laboratório também oferece treinos para diagnóstico de parasitoses como: *malária*, *filariase linfática*, *tripanossomiasse* e *schistosomiasse* (INS, 2019).

1.1.1. Localização Geográfica

O INS tem a sua sede na província de Maputo, no distrito de Marracuene, (ver figura 1) e exerce a sua actividade em todo o território nacional (Nhancale e Júnior, 2018).

O distrito de Marracuene, situado na parte oriental da Província de Maputo, está localizado 30 km a Norte da cidade de Maputo, entre a latitude de 25° 41' 20" Sul e longitude de 32° 40' 30" Este. É limitado a Norte pelo distrito de Manhica, a Sul pela cidade de Maputo, a Oeste pelo distrito de Moamba e cidade da Matola, e a Este é banhado pelo Oceano Índico (Instituto Nacional de Estatística-INE, 2024).

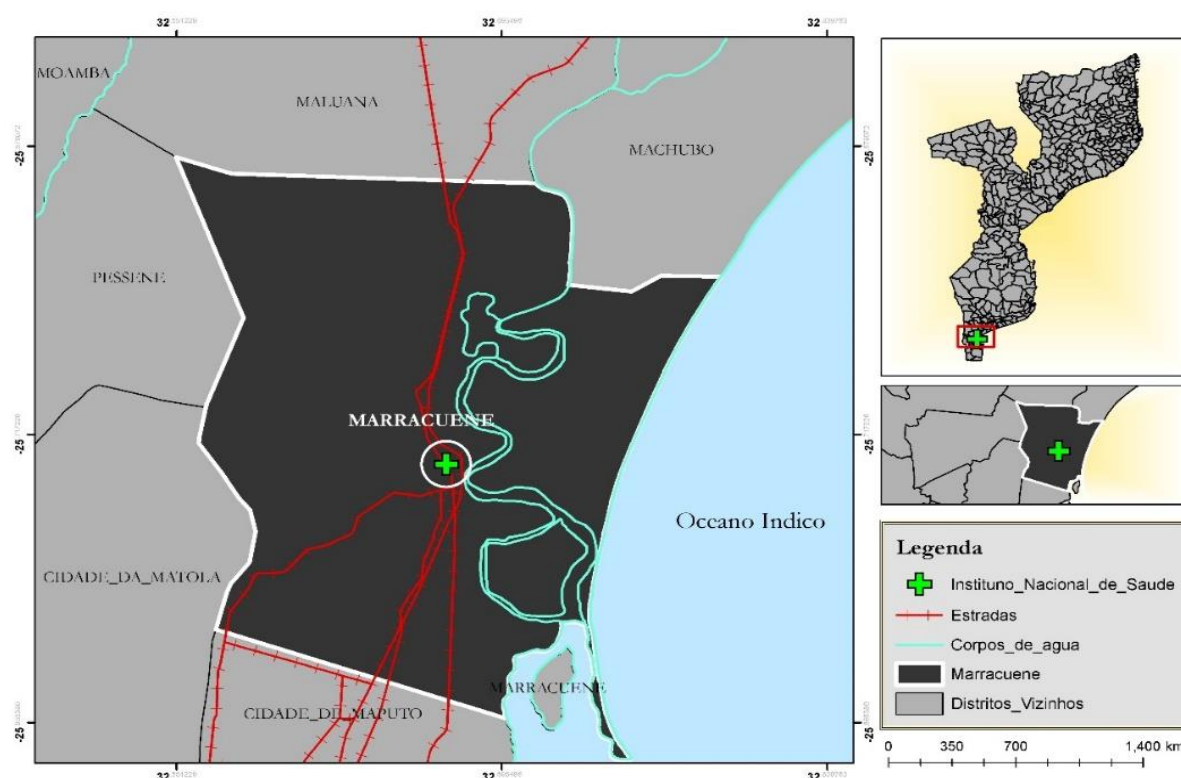


Figura 1: Ilustração do mapa do distrito de Marracuene, com a localização do INS (elaborado por ArcGIS, 2024) Criado pela autora.

1.1.2. Actividades Realizadas pelo INS

O INS é uma entidade tutelada pelo Ministério da Saúde, que se dedica a realização de pesquisas que contribuam para a geração de evidências científica em saúde para garantia de uma melhor saúde e bem-estar (INS, 2019).

De acordo com o Diploma Ministerial n.º 59/2019 de 26 de Junho de 2019, compete ao INS coordenar e superintender a definição da agenda nacional de pesquisa em Saúde e a aplicação da mesma em todo o território nacional, através do fortalecimento institucional, da capacitação científica dos técnicos nacionais e da monitoria do ambiente de pesquisa no Sistema de Saúde (Diploma Ministerial n.º 59/2019).

Compete ainda ao INS, o desenvolvimento e a realização de investigação clínica, biomédica, farmacológica, epidemiológica e sócio antropológica, como instrumento para a definição de políticas de Saúde, contribuindo deste modo, para o diagnóstico laboratorial face aos surtos epidémicos, bem como o controlo e prevenção de doenças (Diploma Ministerial n.º 59/2019).

Ainda no âmbito das competências do INS, incumbe ao mesmo realizar o controlo de qualidade das análises laboratoriais, através de um sistema de referência laboratorial e garantir os aspectos de biossegurança afins ao funcionamento dos laboratórios de referência, e promovendo a transferência de tecnologia, a formação e o treino de pesquisadores e técnicos nacionais (Diploma Ministerial n.º 59/2019).

1.2. Programa do Estágio

O estágio decorreu entre os meses de Junho a Setembro de 2023, com duração de seis (6) meses, com uma carga horária diária de oito horas (8h), carga horária semanal de quarenta horas (40h) e carga horária total de quatrocentas e vinte horas (420h).

A primeira fase do estágio destacou-se pela familiarização da instituição, nomeadamente os laboratórios, sala de autoclave, salas de geleiras e congeladores, sala dos microscópios (microscopia), recepção das amostras, armazéns de materiais do laboratório e escritório, sala de reuniões, copo e refeitório.

A segunda fase consistiu na realização de actividades de recepção das amostras, registo no livro e na base de dados, processamento das amostras, preenchimento dos formulários diários de temperatura e o ambiente do laboratório, limpeza de bancadas e registo de temperatura das geleiras e congeladores.

A terceira fase constituiu na realização de actividades relacionadas à leitura e registo na base de dados das lâminas com amostras processadas, registos mensais de controlo de temperatura das geleiras e congeladores do laboratório, limpeza das bancadas e ambiente do laboratório na base de dados.

E por último, a quarta fase correspondente ao inquérito sobre a Prevalência de Parasitas Intestinais em Mulheres grávidas, levado a cabo nos Distritos de Katembe e Moamba.

A tabela a seguir ilustra as actividades realizadas durante o estágio no Laboratório do Instituto Nacional de Saúde desde mês de Junho até Dezembro de 2023.

Tabela 1: Plano de actividades realizadas durante o estágio.

Actividades	Descrição	Período
Normas de biossegurança laboratorial	Uso de materiais e equipamentos individuais e colectivos do laboratório.	De 12 de Junho á 22 de Junho.
Treinamento em recepção de amostras e registo no livro	As amostras eram recebidas no intervalo das 8 às 15horas posteriormente registadas no livro de controlo.	De 27 de Junho á7 de Julho.
Processamento de amostras pelas técnicas de Kato-Katz, Ritchie e Ziehl-Neelsen	Logo a recepção e registo no livro de controlo, as amostras eram processadas segundo a técnica de requisição.	De 10 de Julho á 21 de Julho.
Leitura das lâminas e preenchimento de formulários de trabalho	Depois de processadas as amostras, segundo a técnica requisitada, eram feitas as leituras e registadas no formulário de trabalho e posteriormente na base de dados.	De 24 de Julho á 4 de Agosto.
Inquérito sobre a prevalência de Geo-helminthos em mulheres grávidas nos Distritos de Katembe e Moamba	O inquérito foi realizado no período de 2 de Outubro à 23 de Dezembro de 2023.	

1.3.Apoio Concedido por parte da Unidade de Estágio

O estágio foi orientado pelo supervisor dr. Justino Machai com apoio dos técnicos do laboratório.

Os técnicos do laboratório concederam todo apoio necessário desde material, motivação para a integração nas actividades do laboratório e realização do presente trabalho, bem como o espaço para esclarecimento de dúvidas.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Conceitos Gerais

De acordo com Neves *et al.* (2016), parasitismo é a associação entre seres vivos, em que existe unilateralidade de benefícios, sendo um dos associados prejudicados pela associação. Nomeadamente, o parasita sendo o agressor, e o hospedeiro é o que alberga o parasita.

De uma forma geral, as infecções parasitárias são causadas por parasitas e constituem um grande problema de Saúde Pública, afectando populações que vivem nas regiões tropicais e subtropicais, sobretudo em países em desenvolvimento (Moiane *et al.*, 2019).

Silva (2019) resume as parasitoses intestinais como infecções causadas por protozoários ou helmintos que apresentam, pelo menos, uma fase de seu ciclo dentro do trato gastrointestinal humano, podendo ou não causar uma doença.

As parasitoses intestinais são mais recorrentes na África, Ásia e América Latina, ocorrendo em áreas urbanas e rurais, e está presente em todas as faixas etárias. Constitui um indicador de *status* socioeconómico e de saúde colectiva de uma região (Maia e Hassum, 2016).

2.2. Principais Agentes Etiológicos das Parasitoses Intestinais

As parasitoses intestinais são infecções causadas por um amplo grupo de organismos e com maior representatividade os protozoários (*Entamoeba histolytica*, *Dientamoeba fragilis*, *Giardia duodenalis* e *Cryptosporidium parvum*) e os helmintos (*Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Ancylostoma duodenale* e *Taenia solium*) (Auler *et al.*, 2018).

2.2.1. Protozoários Intestinais

O grupo dos protozoários intestinais é constituído por organismos eucariontes, protistas e unicelulares. Esses organismos possuem grande variação morfológica conforme sua fase evolutiva e o meio ao qual estão adaptados (Sales, 2022).

Algumas espécies, como a *Giardia duodenalis* e as espécies da Família *Entamoebidae* apresentam um ciclo de vida que passa pelas formas trofozoíto (forma activa do parasito) e cisto (forma de resistência) (Neves, 2016).

As espécies do filo Apicomplexa possuem um ciclo de vida com diversas formas evolutivas, como o oócito (forma de resistência), esporozoítos (forma que parasita as células epiteliais do

trato gastrointestinal), trofozoítos (responsável pela multiplicação assexuada) e micro e macrogametas (responsáveis pela reprodução sexuada) (Neves, 2016).

2.2.1.1. Características Morfológicas dos Principais Protozoários Intestinais

A *Entamoeba histolytica* possui tamanho de 5 a 20 μm , apresentam cisto imaturo de forma arredondada com um ou mais núcleos, e o cisto maduro com quatro núcleos. Na forma de trofozoíto são irregulares e o núcleo com tamanho de 10 μm a 60 μm (ver figura 2 - A) (Munareto *et al.*, 2021).

A *Giardia lamblia* possui cisto de forma ovalada com quatro núcleos, corpos parabasais dispostos transversalmente e axonemas dispostos longitudinalmente, com tamanho de 8 μm a 15 μm . Trofozoíto com forma piriforme e simetria bilateral, com dois núcleos, corpos parabasais e axonemas dispostos longitudinalmente, com quatro pares de flagelos, tamanho de 10 μm a 24 μm (ver figura 2 - B) (Munareto *et al.*, 2021).

A *Entamoeba coli* possui cisto maduro de forma arredondada, contendo até oito núcleos, com tamanho de 15 μm a 25 μm . O trofozoíto de forma irregular e o núcleo com tamanho de 18 μm a 28 μm (ver figura 2 - C) (Munareto *et al.*, 2021).

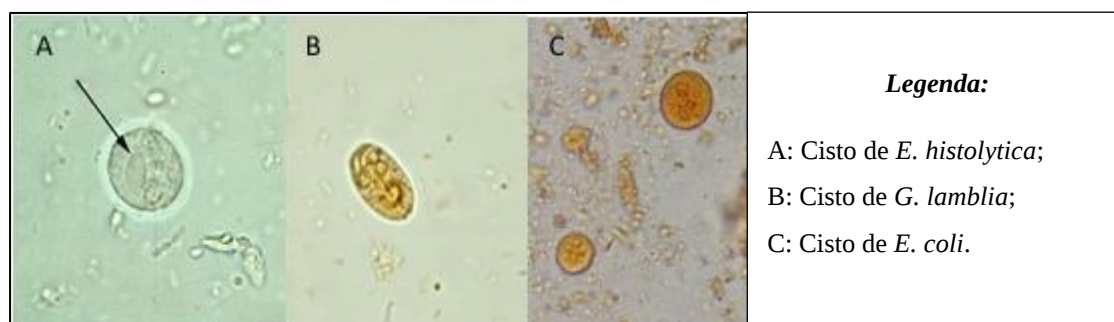


Figura 2: Cistos de protozoários intestinais. Fonte: Munareto *et al.* (2021).

2.2.2. Helmintos Intestinais

Os helmintos (*hélmins* = vermes) constituem um grupo muito numeroso de animais, incluindo espécies de vida livre e de vida parasitária. Distribuem-se pelos filos Platyhelminthes, Nematoda e Acanthocephala (Neves, 2016).

Os nematódeos intestinais são helmintos cilíndricos e alongados. Seu tamanho varia de acordo com o género, apresentam dimorfismo sexual, onde, geralmente, as fêmeas são maiores que os machos, e o tamanho varia de 1mm a 50cm (Sales, 2022).

As principais espécies de nematelmintos causadores de infecções no homem são geohelmintos, ou seja, são seres que necessitam passar por um dos seus estágios de desenvolvimento no solo antes de se tornarem infectantes (Neves, 2016).

A transmissão pode ocorrer por via oral, pela ingestão de água ou alimentos contaminados com ovos embrionados, como ocorre com *A. lumbricoides* e *T. trichiura*, e ainda, transmissão por larvas infectantes que penetram na pele dos indivíduos ao andarem descalços como ocorre na infecção por *Strongyloides stercoralis* e *A. duodenale* (Teixeira, 2016).

2.2.2.1. Características Morfológicas dos Principais Helmintos Intestinais

Ascaris lumbricoides possui ovo fértil de formato oval com três camadas, em média com 60 µm de comprimento; possui ovo infértil de formato alongado, com 80 µm a 90 µm de comprimento; os vermes adultos são longos e cilíndricos, as fêmeas são maiores e mais grossas (ver figura 2 - A, B, C e D) (Munareto *et al.*, 2021).

Enterobius vermicularis possui ovos com formato da letra “D”, 55 µm x 25 µm de tamanho, cor clara, casca espessa formada por membranas justapostas. Larva adulta mede cerca de 1 cm de comprimento, com corpo fusiforme, extremidades finas e cor esbranquiçada (ver figura 2 - E e F) (Munareto *et al.*, 2021).

Ancylostoma duodenale possui ovo com tamanho entre 0,8 cm a 1,3 cm, forma ovalada; as larvas rabditoide apresentam bulbo esofagiano, já as larvas filarióide apresentam esófago cilíndrico e cauda pontiaguda (ver figura 2 - H) (Munareto *et al.*, 2021).

Strongyloides stercoralis possui larva rabditóide com 0,25 mm, possui esófago rabditóide, vestibulo bucal curto e primórdio genital visível, já a larva filarióide mede cerca de 0,5 mm e contém esófago cilíndrico. A fêmea é maior (1,5 mm) e possui extremidade posterior delgada (ver figura 2 - I) (Munareto *et al.*, 2021).

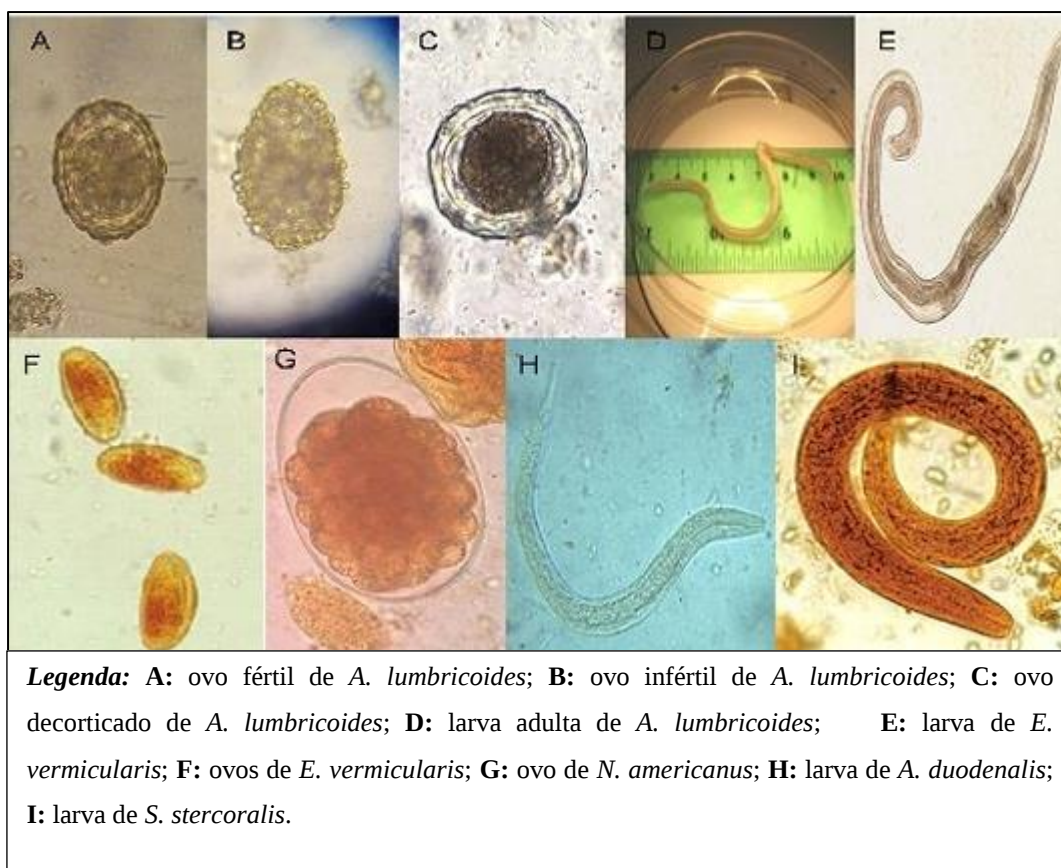


Figura 3: Helmintos intestinais. Fonte: Munareto *et al.* (2021).

2.3. Epidemiologia das Infecções Intestinais

Segundo Cardoso (2015), as parasitoses intestinais são endêmicas em países subdesenvolvidos e embora sejam doenças cosmopolitas, sua ocorrência é alta em áreas rurais, pois estão associadas a áreas sem saneamento e cuja população não apresenta bons hábitos higiênicos.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que aproximadamente 3,5 bilhões de pessoas no mundo estão infectadas por alguma espécie de parasita intestinal, sendo que destas, cerca de 450 milhões estão doentes, e a maioria são crianças residentes nas áreas tropicais de países em desenvolvimento (Cardoso, 2015).

A África corresponde a região com elevada prevalência de doenças parasitárias intestinais, estima-se que cerca de 50% da população esteja infectada com um ou mais tipos de parasitas (Ahmed *et al.*, 2023).

Com relação aos dados da OMS, Moçambique é um país endêmico para cinco diferentes doenças tropicais negligenciadas, incluindo doenças parasitárias, que são controladas e

eliminadas através de políticas públicas de quimioterapia preventiva, dirigidas a pessoas vulneráveis, especialmente crianças (WHO, 2018). Esta elevada prevalência da doença é consequência de factores comportamentais, biológicos e ambientais, aos quais estão expostas, bem como factores financeiros, como a falta de investimento (Casmó *et al.*, 2023).

Segundo Ferreira *et al.* (2019), no seu estudo realizado na zona norte do País (Hospital Central de Nampula), demonstrou que 31,6 % de crianças estavam infectadas com pelo menos um parasita intestinal. As infecções simples foram encontradas em 27,7% dos participantes e protozoários foram os parasitas intestinais patogénicos predominantemente detectados, correspondendo a 26,5%.

De acordo com o mesmo autor, os sintomas associados à essas infecções foram vómitos (23,7%), febre (34,9%) dor abdominal (43,9%), falta de apetite (50,8%), e tosse (52,1%). A *Giardia duodenalis* foi identificada em 23,9% nas amostras de fezes, seguido de *S. stercoralis* em 4,1% (34/831) e *Cryptosporidium sp.* em 3,4% (28/831).

Moiane *et al.* (2019), num estudo sobre a prevalência de parasitoses intestinais em crianças nas escolas primárias da província de Sofala, envolvendo um total de 5.748 alunos, dos quais foram colhidas amostras de fezes e processadas por técnicas de Ritchie e Kato-Katz, constataram que a prevalência global de parasitoses ao nível da província foi de 34,4%.

Nesta senda, o distrito de Muanza destacou-se como o mais prevalente com 59,4% e o distrito de Dondo o menos prevalente com 14,1%. E as espécies *Entamoeba coli* (23,6%), *T. trichiura* (16,0%), *A. duodenale* (14,0%) e *A. lumbricoides* (12,7%) foram as mais prevalentes.

Alfredo (2016), em seu estudo referente ao controlo pós-terapêutico da schistosomose e das parasitoses intestinais nos distritos de Quelimane e Gurué, na qual envolveu 357 crianças escolares, com as respectivas amostras de fezes processadas pelo método de Kato-Katz, apresentou prevalências globais de infecção por helmintos com destaque de 38.4% para *S. haematobium*, 32.1% para *Ascaris lumbricoides*, 35.5% para *Trichuris trichiura* e 5.1% para Ancilostomídeos.

Outro estudo realizado na Província de Nampula por Bauhofer *et al.* (2021), mostrou uma prevalência significativa de protozoários intestinais em crianças menores de 5 anos de idade, com diarreias, onde foram detectados 21,4% de protozoários, o *Cryptosporidium spp* o mais

comum (13,9%), seguido por *Giardia lamblia* (9,1%) e *Entamoeba histolytica* (0,4%). A *Entamoeba histolytica* foi detetada em uma criança de onze meses, co- infetada com *Cryptosporidium spp* e subnutrida.

2.4. Disseminação das Parasitoses Intestinais

Segundo Teixeira (2016), a disseminação das parasitoses intestinais aparece ligada aos modos culturais das organizações sociais, afectando em especial as comunidades com hábitos de higiene precários e com baixos investimentos em saneamento básico.

De acordo com Silva (2018), os factores responsáveis pela ocorrência e disseminação dos parasitas intestinais são de ordem humana (hospedeiro), ambiental, social e comportamental. Destacando que em famílias com muitos membros, há um maior contacto interpessoal, o que facilita a disseminação parasitária.

Almeida e Souza (2020) explicam que a educação infantil, que abrange crianças até os seis anos de idade, constitui a primeira etapa da educação básica. Crianças nessa faixa etária compõem um dos principais grupos de risco para infecções parasitárias.

Este destaque do público infantil nos estudos das parasitoses intestinais, encontra-se relacionado aos hábitos comuns nos primeiros anos de vida, como levar os objectos à boca e o contacto directo com o solo para brincar e aprender a andar (Teixeira, 2016).

Quanto a outra via de transmissão que mereça destaque frente ao parasitismo intestinal, Teixeira (2016) destaca a contaminação por via alimentar. Destacando que o contexto do cuidado com os alimentos deve incluir medidas como a inspecção sanitária rigorosa e desenvolvimento de educação em saúde nas comunidades.

Mediante o exposto pelos vários autores acima citados, de forma resumida sublinha-se que a disseminação das parasitoses intestinais encontra-se associada aos recursos básicos de vida, disponíveis em determinadas comunidades. Destacam-se ainda, na disseminação das enteroparasitoses, factores como a qualidade da água e solo, presença de animais domésticos que podem funcionar como reservatórios de parasitas, a questão da má gestão de lixo, a elevada densidade populacional em bairros suburbanos, susceptibilidade do hospedeiro e hábitos individuais.

2.5. Sintomatologia

De acordo com Semanat (2017), as manifestações clínicas das parasitoses intestinais variam desde casos assintomáticos até formas graves. A gravidade depende da carga parasitária, como também da faixa etária do hospedeiro e o seu estado nutricional.

Acrescenta-se ainda, que as consequências das parasitoses intestinais dependem do tipo de parasita, mas de forma geral pode causar náuseas, sangramento intestinal, anemia, perda de peso, flatulência, dor ou desconforto abdominal, fezes volumosas e fétidas, diarreia, febre, anorexia, irritabilidade, distúrbio do sono e vômitos ocasionais (Semanat, 2017).

Tabela 2: Sintomatologia das parasitoses causadas por alguns parasitas intestinais.

PARASITA	Doença	SINTOMATOLOGIA
<i>E. histolytica</i>	Amebíase	A maioria dos indivíduos apresentam-se assintomáticos. Nos casos sintomáticos: disenteria e a colite amebiana, podendo evoluir para abscessos amebianos em diversos órgãos como fígado, pulmão e cérebro.
<i>G. lamblia</i>	Giardíase	Diarreia aguda e crônica, desnutrição, perda de peso e esteatorreia. A aderência da forma trofozoíta à mucosa intestinal causam danos nas microvilosidades dos enterócitos, dificultando a absorção de nutrientes.
<i>A. duodenale</i>	Ancilostomíase	O principal quadro clínico é a anemia intensa.
<i>A. lumbricoides</i>	Ascaridíase	Quadro de pneumonite devido à migração pulmonar, febre, tosse e eosinofilia. Também o desconforto abdominal, náuseas e anorexia, e em casos graves podem ocorrer obstrução intestinal ou peritonite.
<i>T. trichiura</i>	Tricuríase	A maioria dos indivíduos são assintomáticos, podendo ocorrer dores abdominais, anorexia, desnutrição, irritabilidade, retardamento no desenvolvimento físico.
<i>S. stercoralis</i>	Estrongiloidíase	As manifestações mais frequentes são: anorexia, distensão abdominal, náuseas, vômitos, dor abdominal ou epigástrica, esteatorreia.
<i>E. vermicularis</i>	Enterobíase	Prurido anal, náuseas, vômitos, dores abdominais em cólica, tenesmo e evacuações sanguinolentas.

Fonte: adaptado de Teixeira (2016).

2.6. Diagnóstico Laboratorial de Parasitas Intestinais

O diagnóstico clínico das parasitoses intestinais não é muito preciso, portanto, algumas infecções podem ser assintomáticas, ou apresentar sintomas inespecíficos. Dessa forma, o diagnóstico parasitológico mostra ser de extrema importância para a confirmação dessas infecções e para o desenvolvimento terapêutico adequado (Azevedo *et al.*, 2017).

O exame parasitológico de fezes (EPF) é muito utilizado em laboratórios de análises clínicas para identificação de enteroparasitas, tanto protozoários como helmintos. O EPF tem por objectivo o diagnóstico de parasitoses intestinais onde ocorre presença de parasitos sob forma de trofozoítos, cistos, oócitos, ovos, larvas e até mesmo vermes adultos ou parte deles. E na verdade não há um método único apropriado para todas as formas ou espécies possíveis de serem detectadas (Sales, 2022).

Assim, o EPF consiste em um conjunto de métodos que visa detectar o espectro mais amplo possível de formas: alguns fazem parte de EPF de rotina, enquanto outros são considerados métodos especiais. O EPF também é uma ferramenta de investigação epidemiológica, já que as parasitoses intestinais estão relacionadas à pobreza e a precariedade sanitária (Silva *et al.*, 2020).

2.6.1. Técnicas de diagnóstico laboratorial

Na maioria dos pedidos de EPF, a suspeita clínica não é relatada, portanto são utilizados métodos mais gerais para o diagnóstico. Dentre os métodos gerais, Neves (2016) destaca os seguintes:

- a) **Método Directo:** o método directo é indicado, principalmente, para a triagem das amostras fecais que chegam ao laboratório. Pode ser feito com material recém-emitido a fresco ou corado com soluções de iodo. Essa técnica consiste na observação, em um microscópio, de uma pequena porção de fezes, diluída em uma solução salina. Apresenta baixa sensibilidade, pois não utiliza um processo para a concentração das formas parasitárias. Entretanto, este método pode ser útil para a pesquisa de trofozoítos de protozoários em fezes diarreicas recém-emitidas (no máximo 30 minutos após a colheita).
- b) **Método de Sedimentação Espontânea:** conhecido também como método de Lutz (1919) ou método de Hoffman, Pons e Janer (1934), é muito utilizado devido a sua simplicidade e baixo custo. Nesta técnica a amostra é diluída em água e filtrada com

gaze cirúrgica em um cálice; e é deixada decantando por duas horas ou mais. A análise é feita com uma pequena porção da amostra que se sedimenta ao fundo do cálice. Sendo eficaz para ovos e larvas de helmintos e cistos de protozoários, tornando-se principalmente útil para a pesquisa de ovos pesados.

- c) **Sedimentação por centrifugação** ou método de Blagg (também conhecido por método de MIFC) e método de Ritchie: Utiliza a centrifugação para concentrar as formas parasitárias. Assim como a sedimentação espontânea, viabilizam a pesquisa de ovos e larvas de helmintos, cistos e alguns oócitos de protozoários, sendo utilizado na rotina laboratorial.
- d) **Flutuação espontânea ou método de Willis**: Indicado para a pesquisa de ovos leves, principalmente ovos de ancilostomídeos. É pouco utilizado porque os métodos anteriormente citados possibilitam a pesquisa não apenas de ancilostomídeos, mas também de outros parasitos intestinais.
- e) **Centrífugo -flutuação ou método de Faust**: Usado para a pesquisa de cistos e alguns oócitos de protozoários, possibilita, também, o achado de ovos leves. Deve ser utilizado quando há suspeita de ameba ou giardia.
- f) **Método de Kato Katz**: consiste no exame de um esfregaço fecal espesso sob uma lamínula de celofane tratada com solução de glicerina e verde malaquita, promovendo a clarificação do material para permitir melhor visualização de ovos de casca grossa, mas não os ovos e cistos mais transparentes. É indicado especialmente para a pesquisa de ovos de *Schistosoma mansoni*, podendo ser utilizado também para a pesquisa de ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e ancilostomídeos.
- g) **Método de Baermam-Moraes**: baseia-se no hidrotropismo e no termotropismo das larvas de helmintos, e na tendência destas de sedimentares em contacto com a água. Nesta técnica, as amostras de fezes são postas em repouso sobre uma gaze dobrada em uma peneira apoiada em um funil que fica em contacto com água aquecida através de um tubo de borracha. Após uma hora, a água é centrifugada e o sedimento é colectado e corado com *lugol* para observação em microscópio.

É importante salientar, que a utilização de dois ou mais métodos é útil para um diagnóstico preciso de infecção causada por parasitas intestinais (Munareto *et al.*, 2021).

2.7. Tratamento

Segundo Munareto *et al.* (2021), os antiparasitários são fármacos que agem com o intuito de eliminar parasitas que estão localizados no trato gastrointestinal sendo ovo, cisto e protozoário que invadem o tecido.

O uso indiscriminado de anti helmínticos sem diagnóstico laboratorial pode desenvolver resistência medicamentosa, além de trazer um problema secundário ou adverso devido à exposição desnecessária ao medicamento, desta forma a realização do exame parasitológico de fezes, que tem uma fundamental importância na identificação do parasita, permite um uso correcto do medicamento, sendo este uma vez específico a cada parasita (Freitas, 2017).

Segundo Alfredo (2016), os principais medicamentos usados no tratamento das parasitoses intestinais (*A. lumbricoides*, *T. trichiura*, Ancilostomídeos, *S. stercoralis* e *E. vermicularis*) são o Albendazol e o Mebendazol.

O Albendazol é pouco absorvido, portanto a sua acção ocorre directamente no trato gastrointestinal. Possui acção vermícida, larvícida e ovícida. Na ascaridíase e enterobíase, este medicamento mostra níveis de cura e de redução de ovos de até 96,4% (Alfredo, 2016).

Alfredo (2016) acrescenta ainda, que os efeitos colaterais são pouco frequentes, sendo os mais referidos tonturas, náuseas, vômitos e dores abdominais. O Mebendazol apresenta actividade ovícida, não tendo muita acção larvícida. Geralmente tem poucos efeitos colaterais. Apresenta taxas de cura para ascaridíase entre 93,8% e 100% e taxas de redução de ovos de 97,9% a 99,5%.

Tabela 3: Tabela de medicamentos.

Agente	Medicamento	Dose pediátrica	Dose para adulto
Ancilostomíase	Mebendazol Albendazol	Crianças acima de dois (02) anos, dosagem a mesma de adulto.	100mg, 2 vezes ao dia, durante 3 dias consecutivos. 400mg via oral em dose única.
Ascaridíase	Albendazol Mebendazol	10mg/Kg, dose única. 1100mg, 2 vezes ao dia, durante 3 dias consecutivos.	400mg/dia, em dose única para adultos. 100mg, 2 vezes ao dia, durante 3 dias consecutivos.
Amebíase	Metronidazol Tinidazol	35mg/Kg/dia, divididas em 3 tomadas, durante 5 dias. 50mg/Kg/dia.	Metronidazol, 500mg, 3 vezes/dia, durante 5 dias. 2g, VO, para adultos, após uma das refeições, durante 2 dias.
Enterobíase	Albendazol Mebendazol	10mg/Kg, VO, dose única. 100mg, 2 vezes ao dia, durante 3 dias consecutivos.	10mg/Kg, VO, dose única, até no máximo de 400mg. 100mg, 2 vezes ao dia, durante 3 dias consecutivos.
Estrongiloidíase	Ivermectina Albendazol	Dose única, VO, obedecendo a escala de peso corporal 25 kg: 1 comp. 400mg/dia, durante 3 dias.	Dose única, VO, obedecendo a escala de peso corporal 25 kg: 1 comp. 400mg/dia, durante 3 dias.

Fonte: adaptado de Munareto *et al.* (2021).

2.8. Prevenção e Controlo das Parasitoses Intestinais

Segundo Teixeira (2016), a prevenção e o controlo das parasitoses intestinais estão apoiados em três elementos principais: investimento em saneamento básico, diagnóstico e tratamento direccionado, e implementação de educação em saúde com diferentes indivíduos e em diferentes contextos populacionais.

Nessa óptica, a melhoria das condições ambientais com investimentos em colecta regular de lixo e distribuição de água potável funcionaria como elementos essenciais para que os indivíduos não se mantenham no centro de um cenário onde são expostos constantemente por parasitas, de diferentes formas e a todo o momento (Teixeira, 2016).

Apesar disso, o mesmo autor destaca ainda a questão dos indivíduos habitando em áreas de risco estarem sujeitos à reinfeção, ou seja, a população pode viver uma situação cíclica de "infecção-tratamento-cura-nova infecção" (Teixeira, 2016).

De uma forma resumida, Fukamichi (2022) destaca as seguintes medidas de prevenção e controlo:

- ✓ As boas condições sanitárias (educação da comunidade; controlo e vigilância dos alimentos, lixo e esgoto; oferta de água tratada) e de moradia, assim como a boa saúde da população contribuem para a profilaxia geral;
- ✓ Para protozoários, a disseminação da infecção poderá ser controlada pela higienização das mãos após a defecação e o manuseio de alimentos, lavagem de frutas e vegetais antes do consumo, saneamento básico e tratamento da água potável;
- ✓ Para evitar alguns helmintos é importante não consumir carne crua e verificar a procedência dos alimentos;
- ✓ Além disso, evitar o contacto íntimo com terra contaminada com fezes humanas ou de animais;
- ✓ No caso da amebíase, a transmissão sexual pode ser evitada pelo uso de preservativos e evitar práticas sexuais que podem permitir a transmissão fecal-oral.

Deste modo, quanto à higiene alimentar, há necessidade de actividades educacionais através de palestras periódicas e aulas para profissionais sobre a manipulação satisfatória de alimentos, com o objectivo de disseminar práticas correctas de cuidados de higiene das mãos, unhas e dos alimentos (Teixeira, 2016).

3. Objectivos

3.1. Objectivo Geral

- Descrever as técnicas de Diagnóstico laboratorial das Infecções Intestinais do Laboratório de Parasitologia Molecular no Instituto Nacional de Saúde.

3.2. Objectivos Específicos

- Conhecer as técnicas de diagnóstico laboratorial das Infecções Intestinais realizadas no Laboratório de Parasitologia Molecular do Instituto Nacional de Saúde;
- Identificar a proveniência das amostras recebidas no Laboratório de Parasitologia Molecular no Instituto Nacional de Saúde;
- Identificar os microrganismos frequentes encontrados nas Infecções Intestinais do Laboratório de Parasitologia Molecular no Instituto Nacional de Saúde;
- Desenvolver habilidades Práticas do Diagnóstico laboratorial das Infecções Intestinais do Laboratório de Parasitologia Molecular no Instituto Nacional de Saúde.

4. Lista de Materiais, Equipamentos e Reagentes usados

i. *Material Laboratorial*

- Amostras de fezes;
- Batas descartáveis de mangas cumpridas;
- Espátula de madeira;
- Fita celofane;
- Rolo de gaze;
- Grelha ou Tina de coloração;
- Papel absorvente
- Kit de Kato-Katz;
- Lamelas;
- Lâminas microscópicas;
- Luvas cirúrgicas tamanho S;
- Máscaras N.9;
- Papel de celofane;
- Papel de filtro;
- Placas de Petri contendo a solução verde malaquita (solução de trabalho).
- Suporte para tubos de ensaio.
- Tubos de Falcon de 15 ml;
- Zaragatoa.

ii. *Equipamentos*

- Microscópio óptico;
- Cabine de biossegurança;
- Geleira (para conservar as amostras, de 2 à 8°C de temperatura);
- Centrífuga;
- Cronómetro.

iii. *Reagentes*

- Formol salino a 10% (para um volume final de 100ml);
- Lugol;
- Éter;
- Ácido- álcool a 3%;
- Verde malaquita a 1%;

- *Fusina fenicata*;
- Áua corrente.

5. Actividades Desenvolvidas durante o período do Estágio

Todas as actividades foram realizadas cumprindo com as normas de biossegurança do laboratório, que compreendem:

- Uso de batas descartáveis;
- Uso de luvas latex;
- Uso de máscaras cirúrgicas ou mascaras KF94;
- Uso de sapatos fechados;
- Uso de tocas; e
- Uso de cabines de biossegurança durante o processamento das amostras.

As principais actividades desenvolvidas no laboratório estavam divididas em 3 fases nomeadamente:

a) Fase pré-analítica

A fase pré analítica corresponde a entrada da amostra na instituição, recepção e registo das amostras no livro de controlo. A recepção das amostras decorreu diariamente no horário compreendido entre 9:30h às 14:30h.

As amostras eram na sua maioria colectadas e transportadas pelos pais dos paciente num frasco plástico com tampa de rosca vermelha, boca larga e estéril numa quantidade de 10gr, colocadas num plástico em uma caixa térmica com acumuladores de frio e entregues na recepção da Instituição, garantindo os bons procedimentos para a correcta conservação e armazenamento das amostras (INS, 2022).

Na recepção, era feito o registo das amostras com o código interno do Instituto Nacional de Saúde pelos técnicos responsáveis, e posteriormente encaminhadas pelos mesmos técnicos que fizeram a recepção para o laboratório de parasitologia molecular.

Após recebidas as amostras no laboratório de parasitologia, foram previamente identificadas e posteriormente registadas no livro de requisição de amostras do laboratório e depois

registadas na base de dados. O registo consistiu no nome do paciente, idade, sexo, data e hora da colheita da amostra, proveniência e o código interno do laboratório.

Caso as amostras chegassem depois da hora do expediente, eram conservadas na geleira em temperaturas de 2 a 8°C num período de 24 a 48 horas para evitar o dessecamento. Nessas temperaturas, os ovos e as larvas dos helmintos se mantêm viáveis por vários dias para posterior o processamento das mesmas (INS,2022).

O sector de análises clínicas recebe amostras biológicas de diversas origens e características. No entanto, há um factor comum a todas elas: a identificação de amostras é uma parte essencial e indispensável da fase pré-analítica, e está directamente relacionado com prováveis erros de análise que possam vir a ocorrer. Sendo assim, de acordo com INS (2022), são rejeitadas amostras sem requisição, sem identificação e em quantidades insuficientes para realização do exame.

b) Fase analítica

A fase analítica envolve o processamento das amostras. As amostras de fezes permitem a observação de uma multiplicidade de espécies de parasitas. São observados protozoários e helmintos, recorrendo à diversas técnicas laboratoriais a descrever de seguida (INS, 2021).

As amostras são analisadas macroscopicamente observando-se a consistência, se apresenta característica diarreica, e microscopicamente por métodos directos em lâmina e métodos de concentração (Zanotto *et al.*, 2018).

De acordo com a INS (2021), as fezes geralmente são caracterizadas quanto a:

- a) **Cor:** podem ser pretas (indicativo de sangue oculto), castanho (cor normal), amarelo claro (presença de gordura) ou branca (icterícia obstrutiva). Na maioria dos casos, a cor das fezes está relacionada com o tipo de alimentos ingeridos, no entanto, a sua alteração pode indicar também problemas intestinais ou doenças;
- b) **Consistência:** formadas (forma normal) também designadas de moldadas, semiforçadas também designadas de semi-molhadas ou ainda pastosas e moles ou líquidas ou ainda diarreicas. A sua alteração pode ocorrer em situações de diarreias infecciosas ou nos sintomas de má absorção de alimentos, intestino irritável ou gastroenterites;

- c) **Presença de sangue ou muco**, geralmente visto como listras vermelhas ou brancas, deve ser observada.

5.1. Processamento das amostras de fezes pela técnica de Kato-Katz

Antes de proceder com o processamento, misturou-se toda a massa fecal para elevar a probabilidade de colher porções com formas do parasita (INS, 2021).

De acordo com INS (2022), esta técnica é eficiente no diagnóstico de *Schistosoma mansoni* e certos helmintos intestinais.

- Antes homogeneizou-se bem as amostras, com uma espátula de madeira estéril no frasco de colheita antes de processar;
- Cortou-se papel celofane (fornecido no kit) semipermeável em pedaços de 24mm por 30mm e mergulhou-se na solução verde malaquita, solução de trabalho, pelo menos 24 horas antes;
- Rotulou-se uma lâmina de vidro com identificação da amostra;
- Colocou-se uma pequena quantidade da amostra fecal fresca e homogeneizada num pedaço de guardanapo;
- Fez-se passar uma porção da amostra por um pedaço de *nylon* com malha de aproximadamente 0,09mm, (fornecido no kit);
- Retirou-se a amostra passada pelo *nylon* e transferiu-se para o orifício (6mm de diâmetro) da placa (fornecido no kit), retirou-se o excesso da amostra, em caso de necessidade. Colocou-se sobre uma lâmina de microscópio;
- Levantou-se cuidadosamente a placa inclinando-a ligeiramente uma extremidade para que o material fecal (cerca de 42 mg) ficasse sobre a lâmina;
- Cobriu-se a amostra com papel de celofane embebido na solução de verde malaquita;
- Removeu-se o excesso da solução de verde malaquita;
- Virou-se a lâmina sobre o papel de mesa, numa superfície plana como forma de distribuir uniformemente a amostra na lâmina;
- Examinou-se a lâmina ao microscópio utilizando a objectiva de 10X;
- Reportou-se os resultados (incluindo resultados críticos ou de alerta) valores críticos ou de alerta: maior ou igual a 50 ovos de parasitas por campo.

Os parasitas transmitidos pelo solo observados por esta técnica, são todos helmintos e podem ser observados sob forma de ovos ou vermes INS (2022).

As lâminas devem ser lidas por dois ou mais técnicos de laboratório antes da emissão do resultado. Isso para em caso de discrepância do resultado, deve existir uma leitura feita por um técnico diferente (INS, 2021).

Tabela 4: Interpretação dos resultados para exame por Kato Katz (INS, 2022).

Parasita	Infecção leve	Infecção moderada	Infecção pesada/ grave
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1-4,999	5,000-49,999	$\geq 50,000$
<i>Trichuris trichura</i>	1-9,999	1,000-9,999	$\geq 10,000$
<i>Ancylostoma duodenalis</i>	1-1,999	2,000-3,999	$\geq 4,000$

Durante a leitura e interpretação dos resultados destacam-se as seguintes notas (INS, 2022):

- Valores de referências: quando o número de ovos observados for dado por 0 (zero), diz-se que o resultado é negativo, e quando for observado 1 ovo ou mais em diante, a amostra é dada por positiva;
- Também pode-se escrever "não se encontram (NSE)" ou "não se observam".

5.2. Processamento por Concentração formol-éter (ou Ritchie)

As amostras de fezes através deste método são previamente tratadas com o formol, que tem o papel de conservar a estrutura dos parasitas. O material fecal é removido por filtração e por elementos gordurosos da suspensão fecal são separados por extracção com éter (ou acetado de etil), seguida de centrifugação, que sedimenta quaisquer parasitas presentes. É a técnica mais completa à semelhança de Telemann-Lima, para observar parasitas INS (2022).

i. Procedimentos:

- Tomou-se cerca de 10g de bolo fecal e misturou-se com cerca de 7ml de solução de formol (ou formol salino) a 10%;
- Filtrou-se a suspensão através de gaze dobrada quatro vezes para um tubo cónico de 15ml;
- Adicionou-se 3ml de éter até perfazer 10ml e arrolhou-se o tubo;
- Agitou-se vigorosamente o tubo durante um minuto, de tal modo a se formar uma mistura homogênea;

- Levou-se o tubo contendo a mistura na centrífuga na velocidade de 2500 rotações por minuto durante 5 minutos ou a 1500 rotações por 10 minutos;
- Decantou-se o sobrenadante e com uma zaragatoa limpou-se nos bordos do tubo sem tocar no fundo do tubo;
- Adicionou-se uma a duas gotas de soro fisiológico ou água destilada e agitou-se suavemente para soltar o sedimento do fundo do tubo;
- Colocou-se uma gota da mistura na lâmina e sobre ela uma gota de lugol, cobriu-se a lâmina com uma lamela para ser observada ao microscópio óptico;
- Leu-se a lâmina com a objectiva de (10X) e de seguida com a objectiva de (40X) e registou-se os resultados na folha de trabalho. De 6 a 12 parasitas por campo e mais de 12 ovos de parasitas observados são considerados resultados cíticos (INS,2022).

Tabela 5: Interpretação do resultado para exame de Ritchie (INS, 2022).

Número de ovos observados / campo	Resultado
1 a 5	Infecção leve
6 a 12	Infecção moderada
Mais de 12	Infecção grave

5.3. Processamento por Ziehl-Neelsen modificado

a) Procedimentos (INS, 2022):

- Registou-se com o código interno a cada lâmina por pedido;
- Fez-se um esfregaço das fezes brutas em cada uma das lâminas com auxílio de uma zaragatoa (fezes muito líquidas) o sedimento de concentração através da técnica de Ritchie;
- Colocou-se as lâminas sobre uma grelha com esfregaço virado para cima, sem encostar umas as outras;
- Deixou-se o esfregaço secar a temperatura ambiente;
- Fixou-se em metanol por três minutos;
- Corou-se com Fuscina Fenificada durante 15-20 minutos;

- Encheu-se um copo com água corrente e deitou-se por cima das lâminas inclinado da parte de identificação de cada lâmina, para que se escore suavemente sobre o esfregaço até eliminar todo o corante;
- Cobriu-se completamente a lâmina com a solução descorante de álcool-ácido a 3% e deixou-se actuar por 15-20 segundos;
- Inclinou-se a lâmina e retirou-se a solução descorante, lavou-se a lâmina;
- Verificou-se, se os esfregaços ficaram descorados;
- Cobriu-se completamente a lâmina com solução de verde malaquita durante 30 a 60 segundos;
- Inclinou-se a lâmina e retirou-se a solução de verde malaquita, lavou-se a lâmina. Verificou-se se os esfregaços ficaram corados;
- Humedeceu-se papel toalha com álcool-ácido a 3% ou álcool a 70% e limpou-se o verso de cada lâmina- lado oposto do esfregaço;
- Em um suporte, colocou-se cada uma das lâminas em pé, para secar;
- Depois de 30 minutos, fez-se a observação das lâminas com ajuda do óleo de imersão na objectiva de 100X. Reportou-se os resultados (incluindo resultados críticos).

Os valores críticos ou de alerta, qualquer sinal de presença do parasita deve ser considerado de alerta, visto que se trata de agentes que causam infecções oportunistas.

Com esta técnica, apenas podem ser observados protozoários na forma de oócitos. São observados oócitos de *Cryptosporidium sp*, *Cyclospora cayetanensis* e *Cystoisopora belli* (INS, 2021).

Tabela 6: Interpretação do resultado para exame de Ziehl-Neelsen modificado (INS, 2022).

Número de oócitos observados / campo	Resultado
< 10/ 100 campos	Reportar o n° de parasitas (contagem exacta)
10-100 / 100 campos	+
1 a 10	++
Mais de 10	+++

A quantificação dos oócitos deve ser feita no esfregaço com sedimento nos casos em que se usam esfregaços a fresco e com o sedimento. O uso de esfregaço é recomendado em amostras pastosas e/ou formadas (INS, 2021).

5.4. Conservação e armazenamento das Fezes

Fezes líquidas devem ser processadas até uma hora após a colheita, fezes semi-líquidas processar até 2 horas após a colheita e sólidas até 24 horas. O que implica que estas (líquidas e semi-líquidas) são idealmente processadas no local da colheita, e apenas em casos excepcionais poderão ser processadas em outro local (INS, 2021).

Em termos gerais, as amostras de fezes podem ser conservadas na geleira (2-8°C) durante um mês sem conservantes ou preservadas em formol a 10% para posterior processamento. Podem ser mantidas por mais tempo, mais de três meses sem formol e a temperatura de 20°C ou 80°C (INS, 2021).

6. Outras actividades realizadas durante o período do Estágio

6.1. Preparo de soluções

A prática de controle qualitativo é de grande importância para demanda de atividades exercidas em laboratórios de análises clínicas, a mesma garante busca de melhorias em procedimentos e resultados finais fidedignos, proporcionando segurança para pacientes e auxiliares. Com o sistema de qualidade fixado é possível identificar interferentes, erros ocorridos, alterações inesperadas, a fim de evitar e diminuí-los de imediato, buscando exatidão e precisão em seus métodos (Santos; Junior 2015)

Por isso é de extrema importância a verificação da data de validade dos reagentes antes de usa-la.

Para o preparo das soluções foram usados os seguintes reagentes: Metanol, Fuscina básica, Ácido clorídrico, Etanol, Verde malaquita e Fenol (INS, 2022).

6.1.1. Preparação do Álcool-ácido à 3%

- Mediu-se 97ml de etanol a 95 - 99,9% com uma proveta num frasco de vidro de 200ml;
- Mediu-se 3ml de ácido clorídrico concentrado com uma proveta e adicionou-se no frasco contendo o concentrado do etanol;
- Tapou-se e agitou-se suavemente o frasco para a homogeneização da mistura;
- Rotulou-se o frasco com a seguinte informação: nome da solução, a data de preparo, a data de validação e o nome do técnico que preparou;
- Guardou-se em temperatura ambiente.

6.1.2. Preparação de Verde Malaquita (solução mãe)

- Ajustou-se a balança para calibração;
- Pesou-se 1.0g de verde malaquita em pó;
- Transferiu-se o verde malaquita para um frasco escuro;
- Adicionou-se 100ml de água destilada no frasco contendo o verde malaquita;
- De seguida fechou-se o frasco e agitou-se suavemente durante 2 a 3 minutos;
- Rotulou-se o frasco contendo a solução.

6.1.3. Preparação de Verde Malaquita para técnica de Kato-Katz

- Mediu-se 1ml de solução verde malaquita (solução mãe) para um balão de vidro de 150ml;
- Adicionou-se 50ml de água destilada e 50ml de glicerol a 49,9% no balão contendo a solução da verde malaquita;
- Fechou-se o balão e homogeneizou-se a solução por 2 minutos e rotulou-se o balão de vidro.

6.1.4. Preparação de Carbol-fuscina

Com objectivo de preparar uma solução de trabalho com um volume de 100ml, efectuou-se os seguintes procedimentos:

- Ajustou-se a balança através da calibração;
- Pesou-se 3.0 g de verde fuscina básica em pó;
- Transferiu-se o verde malaquita para um frasco;
- Mediu-se 100 ml de etanol a 95% com uma proveta e juntou-se ao frasco contendo fuscina;
- Fechou-se o frasco e agitou-se suavemente durante 2–3 minutos;
- Rotulou-se o frasco contendo a solução com a seguinte informação: nome da solução, a data de preparação, a data de validade o nome do técnico que preparou.

6.2. Preparo dos esfregaços sanguíneos na mesma lâmina (gota espessa e estendida)

- Retirou-se o tubo de EDTA contendo amostra de sangue da geleira e deixou-se em temperatura ambiente por 30 minutos;
- Com ajuda da pipeta, pipetou-se 6 µL e 2 µL da amostra para preparar a gota espessa e estendida respectivamente, numa lâmina já codificada com o código interno do laboratório;
- Fixou-se a lâmina numa bancada limpa e plana;
- Usando uma segunda lâmina limpa (lâmina distensora) tocou-se a amostra de 6µL, fazendo um movimento para trás tocando a gota com o dorso em um ângulo 45°, deixando o sangue correr ao longo das extremidades da lâmina de vidro;
- O sangue espalhou-se pela borda da lâmina distensora por capilaridade;
- Com um movimento firme, não muito rápido, deslocou-se a lâmina para frente;

- Depois de completamente estendido, o sangue formou-se uma película sobre a lâmina de vidro;
- Usou-se a ponta de uma outra lâmina para espalhar o sangue de 2µL fazendo um movimento circular de cerca de 1cm de diâmetro;
- Deixou-se secar sem nenhuma interferência por 24H. Normalmente deixa-se nas laminotecas em conservação por uma semana, depois faz-se a fixação e a coloração.

6.3. Coloração das lâminas com o Giemsa

- Aplicou-se o metanol na lâmina contendo a amostra se sangue e deixou-se descansar e temperatura ambiente por 10 minutos;
- Aplicou-se o *Giemsa* com uma pipeta, deixando descansar durante 20 minutos;
- Lavou-se com água corrente para remover o excesso de corante;
- Deixou-se a secar por 10 minutos; e
- Levou-se a observar as estruturas com óleo de imersão no microscópio óptico.

6.4. Controlo interno de qualidade do TDR -Malária

Os locais de testagem por TDR -malária devem registar todo o processo de testagem e assegurar que as instruções do fabricante sejam seguidas.

Antes do uso verificou-se:

- i) Integridade da embalagem do teste;
- ii) A data de validade do TDR/kit;
- iii) Presença de todos os itens incluindo a folha de instruções de uso do teste; e
- iv) Os componentes do kit de modo que tenham o mesmo número de lote (bula, testes, lancetas tampão e pipeta capilar).

Depois testou-se com 5ml de amostra de sangue venoso de pacientes com resultados previamente conhecidos (positivo e negativo para *plasmodium falciparum*) em tubos EDTA.

Sempre que o lote dar resultados não satisfatório deve-se parar de usar e reportar o problema ao INS ou LP, e só deve-se voltar a usar mediante um relatório do INS.

6.5. Registo de Informações e organização dos Ficheiros

O laboratório dispõe de formulários para cada tipo de actividade que for realizada.

- Devem ser preenchidos nos formulários de registo e controle de temperatura ambiental, geleiras e congeladores, limpeza das bancadas, isso é feito diariamente no período da manhã e de tarde. Estas informações são também preenchidas na base de dados a cada final do mês.
- Também se preenche o formulário correspondente a cada equipamento do laboratório, isso após o seu uso. Quanto a preparação e uso de soluções de trabalho devem ser preenchidos no formulário correspondente, também quanto o que sai do laboratório e o que entra deve ser registado e arquivados em pastas previamente identificadas. Isso para maior gestão e controle do laboratório.
- Eram feitas reuniões de 15 em 15 dias por mês e apresentação de acta de cada reunião.

6.6. Actividades realizadas fora do Laboratório (campo)

Durante o estágio, tive o privilégio de participar num estudo de campo como inquiridora, que decorreu nos Distritos de Katembe e Moamba.

Em Katembe, a actividade decorreu nos Centros de Saúde de Katembe, Centro de Saúde de Incassane e Centro de Saúde de Chamissava; em Moamba decorreu no Centro de Saúde de Moamba e Centro de Saúde de Ressano Garcia.

O estudo tinha como objectivo fazer rastreio de ocorrência de geo-helminhos em mulheres grávidas nesses distritos.

Fazia-se entrega de frascos limpos de fezes para a colecta de amostra de fezes para que as pacientes trouxessem com amostra no dia seguinte para posteriormente levar-se ao laboratório para processamento e pesquisa de geo-helminhos.

E também, fazia-se um inquérito e teste de malária nas pacientes e registava-se na ficha de cada uma.

7. Limitações durante o Estágio

O repartição de Parasitologia do LAC do Instituto Nacional de Saúde, cumpre com todas as normas recomendadas pela OMS, entretanto, verificou-se algumas limitações na preparação das soluções de trabalho, como verde malaquita (solução mãe) devido falta de água destilada.

Houve limitação para obter o resultados das amostras processadas durante o estágio por parte do técnico responsável do laboratório, pela confidencialidade da Instituição.

Também houve limitação devido a avaria da geleira, de temperaturas de 2 à 8°C, destinada ao armazenamento das amostras de parasitas intestinais.

Em algum momento houve limitação na identificação das espécies. Visto que o laboratório não possui de testes confirmatórios para cada espécie limitando-se apenas na identificação sugestiva da prancha para o diagnóstico de parasitas intestinais e sanguíneos.

Também houve falta de amostra de sangue no laboratório para prática de esfregaço, e teve-se que recorrer a unidade sanitária mais próxima para a reposição.

8. Conclusão

São várias as técnicas que o laboratório do INS usa para o diagnóstico das infecções intestinais.

O diagnóstico laboratorial das infecções intestinais mais usadas pelo LPM do INS, são as técnicas de *Kato-katz*, Concentração formol-éter (ou *Ritchie*) e técnica de *Ziehl-Neelsen* modificado.

A técnica de *Kato-katz* é um método quantitativo, que calcula a quantidade de ovos eliminados pelas fezes;

Técnica de *Ritchie* é usado para a concentração de cistos e oocitos de protozoários.

E quanto a técnica de *Ziehl-Neelsen* Essa técnica é um tipo de coloração diferencial, que implica o uso de diferentes corantes para criar contraste entre as estruturas que deseja observar, diferenciar e posteriormente identificar. A mancha de *Ziehl-Neelsen* serve para identificar certos tipos de microorganismos resistentes;

As amostras eram provenientes do Centro de Investigação e Treino em Saúde da Polana Caniço (CISPOC), Hospital Central de Maputo (HCM) e Hospital Geral José Macamo (HGJM);

Os microrganismos frequentes encontrados das infecções intestinais foram as *Ascaris lumbricoides* e as *Trichuris trichuria*;

A escolha da componente estágio como parte do trabalho do final do curso, teve mais-valia, pois com o estágio tive a oportunidade de aprender mais sobre os conhecimentos práticos e conciliar com os teóricos adquiridos ao longo do curso.

Não só, pode ganhar habilidades técnicas e profissionais, responsabilidades e capacidade de executar várias tarefas, capacidade de adaptação de trabalho em grupo.

Graças ao estágio, pode adquirir habilidades na aplicação das técnicas de diagnóstico executadas no Laboratório de Parasitologia Molecular no INS.

9. Referências Bibliográficas

1. Ahmed, S.A., M. Kotepui, F.R. Masangkay, G.D. Milanez e P. Karantis. (2023). ***Parasitas Gastrointestinais na África: uma revisão***. Avanços em Parasitologia. Adv Parasitol 119.1-64.
2. Alfredo, C. (2016). ***Controlo pós-terapêutico da schistosomose e das parasitoses intestinais e atualização da situação malacológica nos distritos de Quelimane e Gurué***, na província da Zambézia - Moçambique. Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Parasitologia Médica. Universidade Nova de Lisboa Instituto de Higiene e Medicina Tropical.
3. Almeida, C.P. e M.A.A. de Souza. (2020) ***Prevalência de Parasitos Intestinais*** em um Centro de Educação Infantil no Sudeste do Brasil: Prevalence of Intestinal Parasites in a Child Education Center in Southeast Brazil. Brazilian Journal of Production Engineering-BJPE, Brasil, p. 158-165.
4. Auler, M. E., L. de A. Campos, J. A. E. Horst, T. B. dos Santos, C. T. S. Miyahara, C. R. Paula, L. da S. Ruiz, R. F. Granda, D. L. A. Figueiredo. (2018). ***Saúde Itinerante nos Centros Municipais de Educação Infantil*** do Município de Guarapuava - PR; os desafios da promoção da saúde em crianças expostas a doenças parasitárias. Arq. Cienc. Saúde UNIPAR, Umuarama, vol. 22, n. 1, p, 33-41.
5. Azevedo, E.P., E. Almeida, J. Matos e A.R. Ramos. (2017). ***Parasitological Diagnosis*** in fecal samples in the Laboratory of Clinical Analyzes: comparison of techniques and cost of implantation. Revista Brasileira de Análises Clínicas, [S.L.], v.49, n.4, p.401-407
6. Bauhofer, A.F.L., I.L.C.C. Moiane, S.D.A. Marques, E.L.A.M. Guimarães, B.A. Manuela, E.M. Anapakala, J.J. Ciláule, M. Cassocera, J.S. Langa, A. Chissaque, J.A. M. Sambo, L.V.M. Coutinho, D.M. Bero, T.A. Krloggs, L.A.P. Gonçalves e N. de Deus. (2021). ***Intestinal Protozoa*** in Hospitalized Under-five Children with Diarrhoea in Nampula- a Cross-sectional Analysis in a low-income setting in Northern Mozambique. Pp.1-3.
7. Brandelero, E. (2019). ***Hemorragia Digestiva Ocasional*** em Criança por Estrongiloidíase: importância do exame parasitológico. Revista Paulista de Pediatria, [S.L.], v.37, n1, p.121-125.
8. Cardoso, C.O. (2015). ***Epidemiologia das Enteroparasitoses Evidenciadas em Crianças no Município de Porto Velho-RO***. Journal Of Amazon Helth Science. Porto Velho, p. 85-96.
9. Casmo, V.C.M., G.S. Silva, W.S Lima, A.J. Mula e C.A.J. Pereira. (2023). ***Epidemiological Profile of Intestinal Parasites in Children under five years of age in Maputo, Mozambique***. J Trop Pathol. Vol 52 (4): 283-294.
10. Chelkeba, L., Z. Mekonnen, Y. Alemu e D. Emana. (2020) ***Epidemiologia de Infecções Parasitárias Intestinais*** em crianças etíopes em idade pré- escolar e escolar: uma revisão sistemática e meta-análise. BMC Saúde Pública.
11. Coelho, R.C. (2017). ***Parasitas que ocorrem no sangue: Diagnóstico e abordagens terapêuticas***. Monografia de mestrado. Universidade de Lisboa.
12. Cunha, I.P., R. Júnior e O. Martins. (2021). ***Avaliação da Sensibilidade dos Métodos direto à fresco e Hoffman*** para Ascaris Lumbricoides.
13. Dias, L.R. (2017). ***Estudo Coproparasitológico e Epidemiológico de crianças*** e manipuladores de alimentos durante 3 anos em uma creche de Paraíba, Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção, v.7, n. 2.
14. Diploma Ministerial n.º 59/2019 de 26 de Junho. Boletim da República. I Série A. 122 (2019-06-26) p. 2403-2436.

15. Decreto nº8/2003 de 18 de Fevereiro (Regulamento Sobre a Gestão de Lixos Biomédicos, Moçambique).
16. Ferreira F.S., F.L.M. Pereira e M.R.O. Martins. (2019). *Intestinal Parasitic Infections* in Children under Five in the Central Hospital of Nampula. Northern Mozambique. J Infect DevCtries; 14(5):532-539.
17. Freitas, C.O.D. (2017). *Análise comparativa do uso de medicamentos antiparasitários* adquiridos na Unidade Básica de Saúde Santa Cecília Porto Alegre, RS versus drogarias. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRS.
18. Fukamichi, S.L. (2022). *Parasitoses Intestinais*: Protocolo de atenção integral à saúde da criança e do adolescente. Secretaria Municipal da Saúde de Ribeirão Preto-SP.
19. Jonas, C. (2017). *Prevenção e Controle de Infecções Através do Tratamento do Lixo*. Maputo.
20. Igreja, R.P. (2010). *A 15-year follow-up study on schistosomiasis* in a low-endemic area in Rio de Janeiro State, Brazil. J.
21. INE-Instituto Nacional de Estatística (2024). *Estatísticas do Distrito de Marracuene, 2019 – 2023*. Delegação Provincial de Maputo. Moçambique.
22. Instituto Nacional de Saúde. (2021). *Manual de Colheitas do Laboratório de Parasitologia*.
23. Instituto Nacional de Saúde. (2022). *Manual de Técnicas de Diagnóstico Microscópico de Parasitas Intestinais e Urinários/Vesicais*, vol. 1, nº1.
24. Instituto Nacional de Saúde. (2022). *Manual de Biossegurança e Bioproteção*. 2ªed.
25. Instituto Nacional de Saúde. (2019). *Relatório de Actividades (2016-2018)*.
26. Maia, C.V.A. e I.C. Hassum.(2016) *Parasitoses Intestinais e aspectos sociossanitários* no nordeste brasileiro no século xxi: uma revisão de literatura. Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde. HYGEIA.
27. Mariz, F.V.P. (2021). *Procedimento de confecção de esfregaço e coloração hematológica* May-Grunwald-Giemsa. v.1. campina Grande: Universidade Federal de Campina Grande, Hospital Universitário Júlio Bandeira de Mello.
28. Mauricio, L.S.R.. (2022). *Parasitos Intestinais em Crianças*: uma revisão bibliográfica. Instituto Federal do Espírito Santo, Alegre-ES.
29. Mello, R. e R.S. Cordova. (2022). *Principais Parasitas Intestinais* e seus Efeitos Patológicos à Saúde Humana. Acadêmica do Centro Universitário Internacional UNINTER.
30. Moiane, I.C., A. Sabonete, G. Augusto, V. Casmo, R. Nalá. (2019). *Prevalência de Parasitoses Intestinais em Crianças* nas Escolas Primárias da Província de Sofala, Moçambique. Instituto Nacional de Saúde, Laboratório de Parasitologia Molecular. Revista Moçambicana de Ciências de Saúde, Vol 5, nº 1.
31. Moraes-Neto, A.H. (2010). *Prevalence of intestinal parasites versus knowledge*, attitudes, and practices of inhabitants of low-income communities of Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro State, Brazil.
32. Munareto, D. da S., A.P.S. de Lima, G. Zardeto-Sabec, S.L.V. Vieira. (2021). *Parasitoses em crianças na fase pré-escolar no Brasil*: revisão bibliográfica. Research, Society and Development, v. 10, n. 1.
33. Neves, D.P. (2016). *Parasitologia Humana*, 13 and ed. São Paulo: Editora Atheneu.
34. Nhancale, J. e A. Júnior. (2018). *Criação e crescimento do Instituto Nacional de Saúde*: uma análise ao longo do tempo, 1955-2017. Instituto Nacional de Saúde. Maputo.
35. Oliveira S.A.B.M., A. Liparini, C.A.J. Pereira, O.A. Carvalho e W.S. Lima. (2023). *Doenças parasitárias helmínticas e suas relações zoonóticas* com os seres humanos durante o Quaternário. Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza.

36. Sales, S.S. (2022). *Contribuição dos exames parasitológicos de fezes para o diagnóstico das parasitoses intestinais* realizados no Setor de Parasitologia /DPML/FAMED.
37. Santos, A. P., Junior, G. Z. (2015). **Revista Universitária**. Paraná: Universidade Estadual de Maringá, v45, n.1.
38. Semanat, Y.C. (2017). *Controle e prevenção das Parasitoses Intestinais na idade Pediátrica* na comunidade de Vila Nova. Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre. Universidade Aberta do SUS. Pará,
39. Silva, C.P., A.S. Barnabe, T.R. de Mello e R.R.N. Ferraz. (2020). *Perfil de Desempenho de Técnicas Coproscópicas* Coproplus e Hoffman, Pons e Janner no diagnóstico de giardíase. *Revista Epidemiológica e Controle de Infecção*, São Paulo, v.10, n.2, p.1-4.
40. Silva, M.B.M. (2018). *A Ocorrência de Parasitoses Intestinais em Alunos do Ensino Fundamental na Zona Rural Rede Municipal de São Luís-Maranhão e sua relação com os hábitos alimentares*. Mestrado em Educação para a Saúde, Escola Superior de Tecnologia da Saúde, Coimbra.
41. Teixeira, P.A. (2016). *Conhecimentos sobre Parasitoses Intestinais como Estratégia para Subsidiar Ferramentas de Educação em Saúde*. Curso de Medicina, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.
42. WHO. (2018). *working to overcome the global impact of neglected tropical diseases*: first, who report on neglected tropical diseases. Technical report, Geneva: world Health Organization.
43. Zanonatto, M., N.I. Cavagnolli, J.C. Breda e P.K. Spada. (2018). *Prevalence of intestinal parasites and socioeconomic evaluation* of a country town in the Serra Gaucha region, Rio Grande do Sul, Brazil. *Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology*.
44. Zonotto, J. (2015). *Ocorrência de Parasitoses Intestinais em Pacientes Atendidos em Laboratório Privado Cidade de Casavel*- Paraná. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para a obtenção do título de bacharel. Faculdade Assis Gurdacz. p. 7-10.