

Adaptação das técnicas parasitológicas de identificação para quantificação de parasitos gastrintestinais em primatas

Adaptation of parasitological identification techniques for quantification of gastrointestinal parasites in primates

Adaptación de técnicas parasitológicas de identificación para la cuantificación de parásitos gastrintestinales en primates

Recebido: 16/09/2021 | Revisado: 20/09/2021 | Aceito: 25/09/2021 | Publicado: 26/09/2021

Tarcisio Coelho Rodrigues

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5234-9093>
Universidade Federal da Bahia, Brasil
E-mail: tarcisiocoe@hotmail.com

Ilmara Simony Freitas Santana

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7297-9719>
Universidade Federal da Bahia, Brasil
E-mail: ylmarasimony@yahoo.com.br

Lucas Queiroz Lemos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7912-3323>
Universidade Federal da Bahia, Brasil
E-mail: lqueirozl@hotmail.com

Magnólia Silveira Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1169-8307>
Universidade Federal da Bahia, Brasil
E-mail: magnoliasilveira@hotmail.com

Isabela Sousa Prado

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2994-8949>
Universidade Federal da Bahia, Brasil
E-mail: isabelapradow@gmail.com

Cássia Oliveira Rêgo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1165-4969>
Universidade Federal da Bahia, Brasil
E-mail: cassioliver.rgo@gmail.com

Marjorie Santana Soares

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7360-3230>
Universidade Federal da Bahia, Brasil
E-mail: marjorie.soares@hotmail.com

Tiago Sousa de Queiroz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9694-6962>
Universidade Federal da Bahia, Brasil
E-mail: thy.queiroz@hotmail.com

Laize Tomazi

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0977-8508>
Universidade Federal da Bahia, Brasil
E-mail: laizetomazi@yahoo.com.br

Patrícia Belini Nishiyama

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9495-6171>
Universidade Federal da Bahia, Brasil
E-mail: profpatriciabelini@gmail.com

Márcio Borba da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6497-7924>
Universidade Federal da Bahia, Brasil
E-mail: biolmarcioborba@gmail.com

Ricardo Evangelista Fraga

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9345-4869>
Universidade Federal da Bahia, Brasil
E-mail: ricardoefraga@hotmail.com

Resumo

Estudos de parasitos gastrintestinais em primatas mantidos em cativeiro são ferramentas importantes para o manejo da população de macacos, pois contribuem para a avaliação de sua saúde, além de permitir avaliar a eficiência das rotinas

de manejo. Técnicas que podem identificar e quantificar parasitas podem ajudar na avaliação parasitológica. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar técnicas de identificação e quantificação de endoparasitas gastrintestinais em primatas, medir o grau de infecção parasitária das amostras e sugerir adaptações metodológicas nas técnicas de identificação, possibilitando sua utilização também na quantificação de ovos por grama de fezes. A partir de amostras fecais de 39 primatas alocados no Centro de Triagem de Animais Silvestres na cidade de Vitória da Conquista, foram avaliadas três técnicas de identificação - exame direto, sedimentação espontânea e técnica de Willis, usando como padrão ouro a técnica de quantificação por McMaster. Três parasitas - *Ancylostoma* sp., *Enterobius* sp. e *Strongyloides* sp. - foram identificados. A técnica de identificação mais eficiente foi o exame direto, seguido da sedimentação espontânea e da técnica de Willis. Foram feitas adaptações nas técnicas de identificação utilizadas - exame direto e sedimentação espontânea - visando uma melhor avaliação do grau de infecção apresentado por esses primatas. A técnica de McMaster apresenta limitação na quantificação dos parasitas em infecções mais brandas, ao passo que foi possível quantificá-los utilizando-se as técnicas Direta e Sedimentação adaptadas, indicando a possibilidade da utilização dessas técnicas de identificação (qualitativas) para a quantificação de parasitas em fezes de primatas não humanos.

Palavras-chave: Primatas não humanos; Técnicas coproparasitológicas; Parasitos.

Abstract

Gastrointestinal parasites studies in captive primates are important tools for monkey population management because contributes to the assessment of your health, besides allowing the evaluation of the efficiency of the management routines. Techniques that can identify and quantify parasites can help in parasitological evaluation. Therefore, the present work aimed to evaluate techniques for identification and quantification of gastrointestinal endoparasites in primates, measure the degree of parasitic infection in the samples and suggest methodological adaptations in the identification techniques, enabling its use also in the quantification of eggs per gram. Using fecal samples of 39 primates allocated in Wild Animals Screening Center in the city of Vitoria da Conquista, three identification techniques were evaluated - direct exam, spontaneous sedimentation and Willis technique, using the McMaster quantification technique as the gold standard. Three parasites - *Ancylostoma* sp., *Enterobius* sp. and *Strongyloides* sp. - were identified. The most efficient identification technique was direct exam, followed by spontaneous sedimentation and Willis technique. Adaptations were made on the utilized identification techniques - direct exam and spontaneous sedimentation - aiming to a better evaluation of the degree of infection presented by these primates. McMaster's technique has limitations in the quantification of parasites in milder infections, while it was possible to quantify them using the adapted Direct and Sedimentation techniques, indicating the possibility of using these identification techniques (qualitative) for the quantification of parasites in feces of non-human primates.

Keywords: Non-human primates; Coproparasitological techniques; Parasites.

Resumen

Los estudios de parásitos gastrointestinales en primates en cautiverio son herramientas importantes para el manejo de la población de monos, ya que contribuyen a la evaluación de su salud, además de permitir la evaluación de la eficiencia de las rutinas de manejo. Las técnicas que pueden identificar y cuantificar los parásitos pueden ayudar con la evaluación parasitológica. Por tanto, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar técnicas de identificación y cuantificación de endoparásitos gastrointestinales en primates, medir el grado de infección parasitaria en las muestras y sugerir adaptaciones metodológicas en las técnicas de identificación, posibilitando su uso también en la cuantificación de huevos por gramo. A partir de muestras fecales de 39 primates asignados en el Centro de Detección de Animales Silvestres de la ciudad de Vitória da Conquista, se evaluaron tres técnicas de identificación: examen directo, sedimentación espontánea y técnica de Willis, utilizando la técnica de cuantificación de McMaster como estándar de oro. Tres parásitos: *Ancylostoma* sp., *Enterobius* sp. y *Strongyloides* sp. - han sido identificados. La técnica de identificación más eficaz fue la exploración directa, seguida de la sedimentación espontánea y la técnica de Willis. Se hicieron adaptaciones en las técnicas de identificación utilizadas - examen directo y sedimentación espontánea - con el fin de evaluar mejor el grado de infección que presentan estos primates. La técnica de McMaster tiene limitaciones en la cuantificación de parásitos en infecciones más leves, mientras fue posible cuantificarlos utilizando las técnicas de Sedimentación y Directa adaptadas, indicando la posibilidad de utilizar estas técnicas de identificación (cualitativo) para la cuantificación de parásitos en heces de primates no humanos.

Palabras clave: Primates no humanos; Técnicas coproparasitológicas; Parásitos.

1. Introdução

As doenças causadas por parasitas em animais em cativeiro têm apresentado um grande aumento, e podem estar relacionadas ao manejo inadequado, à má alimentação, ao estresse, às condições climáticas e à troca constante dos habitats (Pereira & Costa, 2014). Estudos sobre parasitas gastrintestinais em primatas em cativeiro se tornam importantes, pois assim é possível ter um maior controle do manejo da saúde nesses animais (Brack, 1987), o que justifica a necessidade da utilização de

técnicas para diagnóstico dos parasitas causadores de doenças.

Ao realizar exames coproparasitológicos, temos como principal função detectar, identificar e quantificar os parasitas eliminados de forma espontânea, para uma posterior análise do grau da infecção (Menezes et al., 2013).

A utilização de técnicas laboratoriais específicas, sensíveis e de baixo custo, é importante para o diagnóstico das parasitoses intestinais e acompanhamento das infecções nos Centros de Triagem de Animais Silvestres (CETAS). O exame parasitológico de fezes, por ser relativamente rápido e de baixo custo, é comumente utilizado na rotina laboratorial para detecção e visualização dos parasitas gastrintestinais por microscopia ótica (Machado et al., 2008), indicando assim, o nível de parasitismo (Mendes et al., 2005).

A avaliação do desempenho das técnicas de diagnóstico nos exames de rotina é fundamental para se ter maior precisão nos resultados, seja na identificação ou na quantificação, e desta forma, prestar cuidados mais adequados aos animais (Harhay et al., 2011; Tarafder et al., 2010).

Partindo do princípio da alta rotatividade dos animais nos CETAS, é de fundamental importância avaliar quais técnicas laboratoriais apresentam um resultado mais específico, sensível, que demandam menos recursos financeiros e economia de tempo para os Centros. Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo avaliar técnicas de identificação e quantificação de endoparasitas gastrintestinais em primatas para designar qual é a mais eficiente; medir o grau de infecção parasitária das amostras; e sugerir adaptações metodológicas nas técnicas de identificação, possibilitando sua utilização também na quantificação de ovos por grama de fezes, sobretudo em amostras com baixa densidade de ovos.

2. Metodologia

2.1 Ambiente e amostragem

Foram realizados exames parasitológicos em materiais biológicos (fezes) obtidos em 13 recintos de 39 primatas das espécies *Sapajus libidinosus* (Spix, 1823) e *Sapajus xanthosternos* (Wied-Neuwied, 1826), mantidos em cativeiro no CETAS de Vitória da Conquista – BA. Este trabalho trata-se de uma pesquisa quantitativa descritiva (Dalfovo et al., 2008; Pereira et al., 2018).

O critério utilizado para a divisão das amostras foram as condições dos recintos. Foram avaliadas as características da cobertura (teto), do piso e a possibilidade de haver contato ou não com outros animais que estão em vida livre em torno do CETAS (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização dos recintos por ambientes no Centros de Triagem de Animais Silvestres de Vitória da Conquista - Bahia.

Ambientes	Cobertura	Piso	Contato com animais de vida livre	Recintos (n)	Animais por recinto (n)	Total de animais
I	Total	Cimento	Ausente	1	7 animais	7
II	Ausente	Tela	Presente - primatas	4	3 recintos com 2 animais 1 recinto com 4 animais	10
III	Parcial	Cimento	Presente - primatas	7	3 recintos com 2 animais 1 recinto com 5 animais	21
IV	Parcial	Arenoso	Presente - primatas	1	2 recintos com 3 animais 1 recinto com 4 animais 1 animal	1

Fonte: Dados da pesquisa.

A Tabela 1 mostra que a partir das características dos recintos, ou seja, tipo de piso, presença de cobertura e de possibilidade de contato com animais de vida livre, foram estabelecidos quatro ambientes: o ambiente I apresentava recinto mais protegido do ambiente externo; o ambiente II, apresentava recintos sem cobertura e sem contato com o solo, porém com possibilidades de contato com animais de vida livre; o ambiente III, possuía recintos parcialmente cobertos, com piso de cimento e contato com animais de vida livre, e o ambiente IV, por sua vez, apresentava cobertura parcial, solo arenoso e possibilidade de contato com animais de vida livre. Os recintos tinham o máximo de sete animais e o mínimo de um.

A quantidade de amostras de fezes coletadas nos ambientes foi determinada segundo Santana et al. (2020). A partir do número dos animais presentes em cada recinto, coletando uma amostra por animal, totalizando assim 39 amostras coletadas.

O material biológico foi coletado no chão dos recintos, acondicionados em coletores lacrados e identificados, e transportados em isopor com gelo para o laboratório de Biologia Celular e Molecular da Universidade Federal da Bahia, Campus Anísio Teixeira, para a realização das análises coproparasitológicas.

2.2 Avaliação das técnicas de identificação e quantificação

Foram utilizadas três técnicas para a identificação dos parasitas e avaliação do grau de infecção, sendo elas o Exame Direto (Ferreira, 2012), a Sedimentação espontânea (Hoffmann et al., 1934) e o Método de Willis (Flutuação) (Willis, 1921).

Após a aplicação das três técnicas de identificação, foi realizada a técnica de McMaster – Técnica de Whitlock (1948), técnica padrão ouro para a quantificação de ovos por grama (OPG) em cada amostra, que consistiu em pesar um grama da amostra fecal e diluir em 13 mL de solução saturada adicionando 2 mL de lugol. Este material foi levado para a câmara de McMaster e os valores encontrados foram multiplicados pelo fator de correção. Este valor foi estabelecido levando-se em consideração a quantidade de amostra diluída no solvente total e quanto desta amostra foi avaliada.

2.3 Padronização das técnicas para quantificação

Foi feita uma padronização para a utilização das técnicas Direta e Sedimentação espontânea também para quantificação, para que se tornasse possível quantificar os ovos por grama de fezes (OPG) em um volume pré-determinado.

Esta adaptação foi realizada devido ao fato da técnica padrão ouro de quantificação (McMaster) apresentar baixa sensibilidade para amostras cuja a carga parasitária seja pequena.

A adaptação consistiu em pesar um grama de fezes do exame Direto e Sedimentação. No exame Direto as fezes foram diluídas em 25 mL de água destilada e o exame Sedimentação, em 36 mL. Deste material das duas técnicas, foram retirados uma alíquota de 0,2 mL para avaliação numa lâmina no microscópio. A lâmina foi analisada em sua totalidade bordo, centro e bordo, contando todos os ovos de parasitas encontrados. O valor encontrado foi multiplicado por um fator de correção. Este fator foi estabelecido a partir da quantidade de amostra diluída em um solvente total e o quanto da amostra foi avaliada. O fator de correção para o exame Direto foi 125, que foi encontrado dividindo 25 mL (água destilada utilizada para diluição) por 0,2 mL (valor retirado da alíquota para avaliação). Para o exame de sedimentação o fator de correção foi 180, que foi encontrado dividindo 36 mL (água destilada utilizada para diluição) por 0,2 mL (valor retirado da alíquota para avaliação).

2.4 Análise de dados

Para a análise estatística foi realizado o teste de Shapiro-Wilk para avaliação da normalidade dos dados. Como os dados não foram paramétricos, foi realizada a análise de variância através do teste de Kruskal-Wallis com valor de significância de $p < 0,005$ e o pós teste de Dunn, para avaliar se houve diferenças estatísticas significativas entre as cargas parasitárias estimadas para cada técnica (exame direto, sedimentação espontânea, Willis e McMaster) entre os parasitas *Ancylostoma* sp. e *Strongyloides* sp. Para o gênero *Enterobius* sp., foi utilizado o Teste de Mann-Whitney pelo fato de ter ocorrido em apenas duas técnicas (Callegari-Jacques, 2003).

3. Resultados

A partir das 39 amostras de fezes avaliadas pelas técnicas de identificação de parasitas, foi possível observar a presença de parasitas de três gêneros em três ambientes (Tabela 2).

Tabela 2. Parasitas intestinais encontrados em fezes divididos por ambientes.

Ambientes	Parasitas encontrados
I	<i>Ancylostoma</i> sp.; <i>Strongyloides</i> sp.
II	<i>Ancylostoma</i> sp.; <i>Strongyloides</i> sp.
II	<i>Ancylostoma</i> sp., <i>Enterobius</i> sp., <i>Strongyloides</i> sp.
IV	-

Fonte: Dados da pesquisa.

A Tabela 2 mostra os parasitas encontrados nos ambientes. *Ancylostoma* sp. foi encontrado nos ambientes 1, 2, 3; *Enterobius* sp. foi encontrado no ambiente 3 e *Strongyloides* sp. nos ambientes 1, 2, 3. No ambiente 4 nada foi encontrado.

O percentual de infecções nos ambientes a partir das três técnicas utilizadas para identificação dos parasitas foi definido após a análise (Tabela 3).

Tabela 3. Percentual de infecções por parasitos nos primatas distribuídos por ambiente e por exames parasitários empregados.

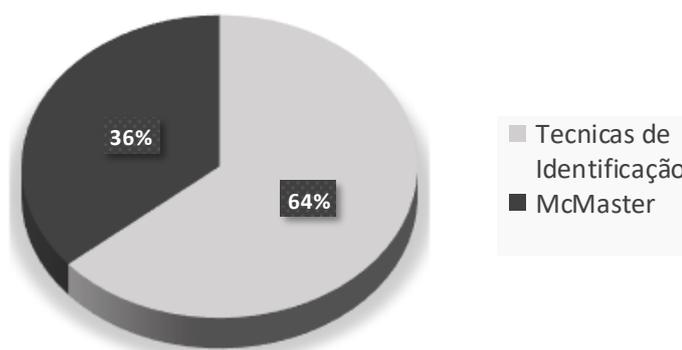
<i>Ambiente</i>	<i>Nº de amostras</i>	<i>Direto</i>	<i>Sedimentação</i>	<i>Willis</i>
I	07 amostras	14,2 % <i>Ancylostoma</i> 57,1 % <i>Strongyloides</i>	28,5 % <i>Ancylostoma</i> 57,1 % <i>Strongyloides</i>	28,5 % <i>Strongyloides</i>
II	10 amostras	60 % <i>Strongyloides</i>	10 % <i>Strongyloides</i>	10 % <i>Ancylostoma</i> 10 % <i>Strongyloides</i>
III	21 amostras	61,9 % <i>Ancylostoma</i> 14,2 % <i>Enterobius</i> 71,4 % <i>Strongyloides</i>	23,8 % <i>Ancylostoma</i> 23,8 % <i>Enterobius</i> 47,6 % <i>Strongyloides</i>	14,2 % <i>Ancylostoma</i> 9,5 % <i>Strongyloides</i>
IV	1 amostra	-	-	-
Total de Amostras e Porcentagem Total	39 amostras	38,4 % <i>Ancylostoma</i> 7,69 % <i>Enterobius</i> 64,1 % <i>Strongyloides</i>	17,9 % <i>Ancylostoma</i> 10,2 % <i>Enterobius</i> 38,46 % <i>Strongyloides</i>	7,69 % <i>Ancylostoma</i> 10,2 % <i>Strongyloides</i>

Fonte: Dados da pesquisa.

A Tabela 3 mostra que a técnica que obteve o melhor resultado para a identificação do parasita *Ancylostoma* sp. e *Strongyloides* sp. foi a Direta. Para o *Enterobius* sp., a melhor técnica foi a Sedimentação. A técnica de Willis foi a que mostrou menor eficiência.

Ao se comparar as técnicas de identificação Direta e Sedimentação com a técnica de quantificação McMaster, foi observado que algumas amostras positivas nas técnicas de identificação, estavam negativas para a técnica de McMaster (falso negativo) (Figura 1).

Figura 1. Comparação da porcentagem de infecção entre as técnicas de identificação e McMaster.

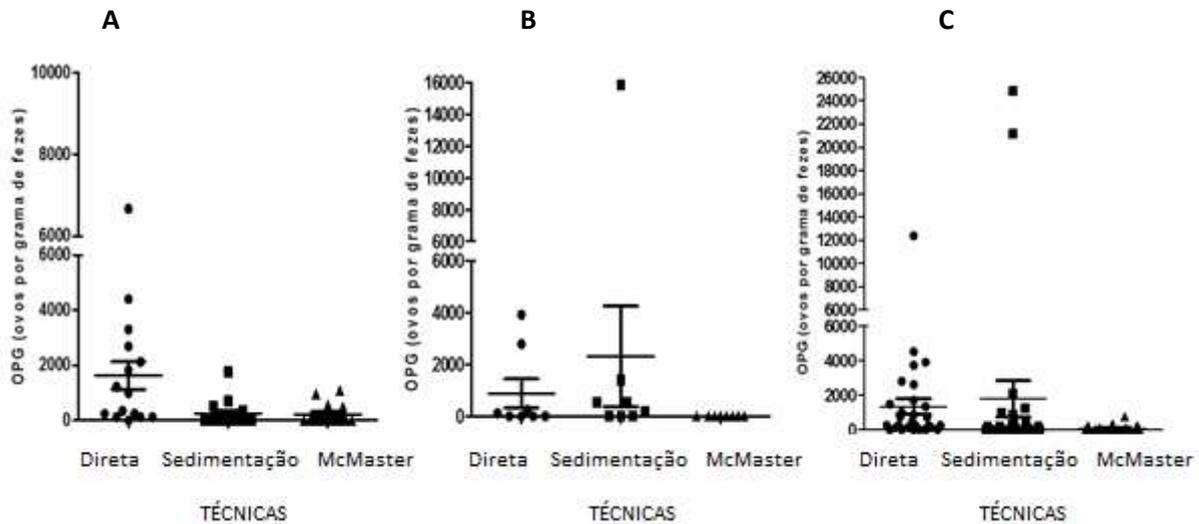


Fonte: Dados da pesquisa.

A Figura 1 mostra que ao total, obteve-se um percentual de 64% de amostras parasitadas nos testes de identificação, e ao analisar essas mesmas amostras, apenas 36% estavam positivas no teste de quantificação McMaster.

Após a padronização para a utilização das técnicas de identificação para a quantificação de ovos por grama, a média e o desvio padrão foram calculados para os três parasitas encontrados (Figura 2).

Figura 2. Comparação das técnicas de quantificação de ovos por grama dos parasitas entre as técnicas Direta adaptada, Sedimentação adaptada e McMaster. 1A - Carga parasitária *Ancylostoma* sp.; 1B - Carga parasitária *Enterobius* sp.; 1C - Carga parasitária *Strongyloides* sp.



Fonte: Dados da pesquisa.

A Figura 2 mostra as diferenças entre a quantificação de ovos por grama das técnicas Direta adaptada, Sedimentação adaptada e McMaster. Os valores encontrados de média e desvio padrão para o parasita *Ancylostoma* sp. foram de 1.633 ± 1.943 OPG na técnica Direta adaptada, de $246,74 \pm 475,2$ OPG na técnica Sedimentação adaptada e de $220,74 \pm 375,8$ OPG na técnica de McMaster (Figura 2A). Os valores encontrados de média e desvio padrão para o parasita *Enterobius* sp., foi de $884,67 \pm 1.557$ OPG no exame Direto adaptado, de $2.313,55 \pm 5.500$ OPG no exame Sedimentação adaptado e na Técnica de McMaster não foi identificado (Figura 2B). Os valores encontrados de média e desvio padrão para o parasita *Strongyloides* sp. foi de $1.346,19 \pm 2.449$ OPG no exame Direto adaptado, de $1.791,29 \pm 5.806$ OPG no exame Sedimentado adaptado e de $55,45 \pm 158,3$ OPG na Técnica de McMaster (Figura 2C).

Houve diferenças estatísticas significativas nas densidades de ovos de *Ancylostoma* sp. entre as técnicas avaliadas ($K= 13,56$; $p = 0,0011$). A técnica Direta adaptada obteve maiores densidades de ovos deste parasito quando comparada com às técnicas de Sedimentação adaptada e McMaster ($p<0,05$). Não houve diferença entre as técnicas Sedimentação e McMaster ($p>0,05$).

Para o parasita *Enterobius* sp., não houve diferenças estatísticas significativas entre as técnicas Direta adaptada e Sedimentação adaptada ($U=27,0$; $p=0,6218$).

Por fim, houve diferenças estatísticas significativas nas densidades de ovos de *Strongyloides* sp., entre as técnicas avaliadas ($K= 17,20$; $p=0,00002$). A técnica Direta adaptada obteve maiores densidades de ovos deste parasito quando comparado com as demais técnicas, isto é, Sedimentação adaptada e McMaster ($p<0,05$). Contudo não houve diferenças significativas entre as densidades registradas pelas técnicas de sedimentação adaptada e McMaster ($p >0,05$).

4. Discussão

A avaliação de carga parasitária em animais é uma ferramenta que auxilia no estudo sanitário da população e na qualidade do ambiente, além de ser um mecanismo utilizado para ações de manejo de fauna e em avaliações periódicas dos

animais em cativeiro (Catenacci et al., 2004). Santos (2008) afirma que existem evidências que animais parasitados estão mais vulneráveis à predação e às pressões ambientais.

Com a aplicação das técnicas de identificação no estudo, foi possível observar a presença de três parasitas, sendo eles *Ancylostoma* sp., *Strongyloides* sp. e *Enterobius* sp. As espécies *Ancylostoma* sp. e *Strongyloides* sp. são consideradas os parasitas mais comuns encontrados em exames parasitológicos de primatas, e estes helmintos contribuem para a piora da saúde animal, afetando o seu comportamento, o processo de reprodução e a busca por nutrientes, podendo levar ao óbito (Stuart et al., 1993).

Em um estudo realizado por Alcântara et al. (2016), onde foram coletados materiais fecais de 22 primatas em cativeiro e utilizados os métodos de Sedimentação espontânea para ovos pesados e Willis para os ovos leves, foi possível identificar *Strongyloides* sp. e *Ancylostoma* sp., compartilhando a presença dos dois gêneros encontrados no presente trabalho.

Quanto ao parasita *Enterobius* sp., houve baixa carga parasitária e pouca detecção em todos os métodos. Para realizar o diagnóstico preciso da carga parasitária deste parasita, recomenda-se a aplicação de uma técnica proposta por Graham (1941). Essa técnica foi realizada em um trabalho com primatas humanos por Silva et al. (2013), através da colagem de uma fita adesiva na região perianal e posterior análise laboratorial da fita. O parasita *Enterobius* sp. fica alojado nessa região, dificultando a análise pelos métodos utilizados neste trabalho.

Ao analisar o percentual de infecção, fica notório a grande presença dos gêneros *Ancylostoma* sp. e *Strongyloides* sp., onde foram encontrados em amostras de 3 dos 4 ambientes classificados. As características estruturais dos recintos nos ambientes podem influenciar na carga parasitária, havendo assim diferença do parasitismo nos mesmos. A contaminação destes ambientes pode ser explicada pelo contato com animais de vida livre e pela proximidade com recintos de outros animais. Silva et al. (2008) realizaram um trabalho com animais em um zoológico e verificaram que a infecção e a disseminação dos patógenos podem se dar entre os próprios animais viventes no zoológico, entre os animais que vivem livres no entorno e entre os funcionários e visitantes do local.

A temperatura e umidade dos recintos também podem ser fatores que levam ao favorecimento das infecções nos ambientes. Em um trabalho realizado por Lucena et al. (2012) mostrando a mortalidade de potros por infecções de *Strongyloides westeri*, foi verificado que a temperatura era um dos fatores que influenciava na sua proliferação, pois contribuía para o ciclo do parasita. Isso também pode ter influenciado para o aumento do número de amostras parasitadas nos ambientes estudados nesse trabalho, pois a temperatura poderia estar propícia para o ciclo biológico do parasita *Strongyloides* sp.

A técnica mais comumente utilizada para o acompanhamento das infecções nos animais, realizando a contagem de ovos por grama (OPG), é a de McMaster. Apesar disso, em um estudo realizado por Fernandes et al. (2006), com ovinos, comparando a técnica de McMaster com a de Centrífugo – Flutuação, foi visto que a técnica de Centrífugo – Flutuação é mais eficiente para contagem quando se trabalha com baixa quantidade de material fecal, devido a sua alta sensibilidade. Sandoval et al. (2011) comparando modelos de câmaras de McMaster para detecção de helmintos em ruminantes, verificaram também que a câmara adaptada é de maior sensibilidade do que a clássica.

Essas afirmações são corroboradas pelo presente trabalho, pois de 100% das amostras analisadas, 64% foram positivas utilizando técnicas rotineiras de identificação (técnicas qualitativas) e apenas 36% na técnica de McMaster usando a câmara convencional para contagem. Essa baixa sensibilidade da técnica pode camuflar o real grau de infecção desses primatas. Desta forma, a quantificação da infecção utilizando a câmara tradicional de McMaster apresenta limitações quando o material biológico analisado está em pequena quantidade. Além da quantidade do material biológico avaliado, o grau de infecção do animal também interfere no resultado, uma vez que a técnica de McMaster tem limitações para a quantificação quando na amostra tem valores inferiores a 50 ovos médios por grama (OPG) (Scare et al, 2017) ou a 20 OPG (Vadlejch et al, 2011), uma distribuição desigual dos ovos nas câmaras pode ser o motivo das imprecisões encontradas (Cringoli et al., 2004).

Ao realizar adaptações nos métodos de identificação para quantificação, foi possível avaliar o grau de sensibilidade das técnicas e comparar a eficiência. Para o parasita *Ancylostoma* sp., a técnica Direta se mostrou mais eficiente para contagem dos parasitas a partir das adaptações do que a McMaster e Sedimentação adaptada, e isso pode ser explicado pela maior sensibilidade da técnica para ovos considerados leves (Neves et al., 2010).

Para o parasita *Strongyloides* sp., o exame Direto adaptado e Sedimentação adaptado também se mostraram mais eficientes em do que a técnica de McMaster. Uma possível resposta para essa maior eficiência é que o parasita só é comumente encontrado em forma de larva rabditoide e seu desenvolvimento pode ser rápido no lúmen intestinal, eliminando as larvas nas fezes (Sandoval et al., 2011), e a técnica de McMaster tem uma menor sensibilidade à larvas e ovos com baixa quantidade de material biológico. Para se ter um diagnóstico seguro é necessário ter uma técnica com alta sensibilidade e especificidade para observação das estruturas (Cerqueira et al., 2007).

Utilizar vários métodos combinados para detectar, identificar e quantificar infecções causadas por parasitas gastrintestinais, sejam eles helmintos ou protozoários, aumenta a acurácia do diagnóstico laboratorial, portanto, a associação de duas técnicas gera um melhor resultado (Menezes et al., 2013). De acordo com Mendes et al. (2005), os laboratórios de rotina necessitam realizar mais de um método para diagnóstico de parasitas, principalmente quando há uma baixa carga parasitária nos exames quantitativos.

A utilização conjunta das técnicas adaptadas para quantificação nesse trabalho pode trazer resultados mais satisfatórios para investigar o grau de infecção parasitária em primatas, graças às vantagens e desvantagens encontradas em cada técnica. O manejo ambiental adequado, o acompanhamento das infecções regulares, a realização de exames coproparasitológicos frequentes e o tratamento adequado ao tipo de parasita encontrado, são eficazes no controle das parasitoses zoonóticas intestinais (Oliveira & Lestingi, 2011).

5. Conclusão

A partir dos dados obtidos no presente trabalho, se conclui que (i) as técnicas Direta e Sedimentação se mostraram mais eficientes que a de Willis para a identificação dos parasitas, (ii) a técnica de McMaster apresenta limitação na quantificação dos ovos dos parasitas em infecções mais brandas, ao passo que foi possível quantificá-los utilizando-se as técnicas Direta e Sedimentação adaptadas, indicando a possibilidade da utilização dessas técnicas também para a quantificação, (iii) a adaptação para quantificação feita na técnica Direta torna a análise parasitária mais confiável, porém recomenda-se a utilização das três técnicas em conjunto para uma maior confiabilidade nos resultados, e portanto, se faz necessário aumentar os estudos de comparação entre as técnicas, aumentando o número de amostras coletadas, para assim sugerir qual técnica é a mais adequada.

O monitoramento parasitológico dos animais é essencial para sua saúde. Identificar e quantificar os parasitas gastrintestinais auxilia no tratamento, verificação e acompanhamento das infecções. As adaptações das técnicas podem trazer resultados precisos quanto ao grau de infecções, economizando tempo de trabalho e melhorando a saúde dos animais.

Referências

- Alcântara, D. S., Mendonça, I. L., Fernandes Neto, V. P., Carniel, P. G. & Pessoa, F. B. (2016). Estudo coproparasitológico da espécie *Cebus libidinosus* (macaco-prego). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária E Zootecnia*, 68(6), 1609-1612.
- Brack, M. (1987). *Agents transmissible from simians to man*. Springer-Verlag, Bedin.
- Callegari-Jacques, S. M. (2003). *Bioestatística: princípios e aplicações*. Artmed.
- Catenacci, L. S., Velastin, G. O. & Rocha, F. (2004). A fragmentação de habitat aumenta a intensidade de endoparasitas em gambás de orelhas brancas (*Didelphis albiventris*)? Anais do VIII Congresso e XIII Encontro da Associação Brasileira de Veterinários de Animais Silvestres – ABRAVAS. Jaboticabal, SP, Brasil.

- Cerqueira E. J. L., Arcanjo M. S. & Alcântara L. M. (2007). Análise Comparativa da Sensibilidade da Técnica de Willis, no Diagnóstico Parasitológico da Ancilostomíase. *Diálogos & Ciência*, 5(10), 01-06.
- Cringoli, G., Rinaldi, L., Veneziano, V., Capelli, G., Scala, A. (2004). The influence of flotation solution, sample dilution and the choice of McMaster slide area (volume) on the reliability of the McMaster technique in estimating the faecal egg counts of gastrointestinal strongyles and *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Veterinary parasitology*, 123(1-2), 121-131.
- Dalfovo, M. S., Lana, R. A., & Silveira, A. (2008). Métodos quantitativos e qualitativos: um resgate teórico. *Revista Interdisciplinar Científica Aplicada*, 2(4), 01-13.
- Fernandes, R. M., Farias, E. H. S., Batista, K. M., Fernandes, M. Z. L. C. M. & Rodrigues, L. M. A. (2006). Comparação entre as técnicas McMaster e centrífugo-flutuação para contagem de ovos de nematóides gastrintestinais de ovinos. *Ciência Animal Brasileira*, 6(2), 105-109.
- Ferreira, M. U. (2012). *Parasitologia Contemporânea*. Guanabara Koogan.
- Graham, C. F. (1941). A device for the diagnosis of *Enterobius vermicularis*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 21, 159-161.
- Harhay, M. O., Olliaro, P. L., Costa D. L. & Costa C. H. N. (2011). Urban Parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil. *Trends in parasitology*, 27(9), 403-409.
- Hoffman, W. A., Pons, J.A. & Janer, J. L. (1934). Sedimentation concentration method in *Schistosomiasis mansoni*. *Puerto Rico journal of public health and tropical medicine*, 9, 283-98.
- Lucena R. B., Figuera R. A. & Barros C. S. L. (2012). Mortalidade em potros associada ao parasitismo por *Strongyloides westeri*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32(5), 401-404.
- Machado, E. R., Santos, D. S. & Costa-Cruz, J. M. (2008). Enteroparasites and commensal among children in four peripheral districts of Uberlândia, State of Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 41(6), 85-81.
- Mendes, C. R., Teixeira, A.T. L.S., Pereira, R. A.T. & Dias L. C. S. (2005). Estudo comparativo entre os métodos de Kato-Katz e coprotest. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 38(2), 178-180.
- Menezes, R. A. O., Gomes, M. S. M., Barbos, F. H. F., Machado, R. L. D., Andrade, R. F., Couto, A. A. R. D. (2013). Sensibilidade de Métodos Parasitológicos para o Diagnóstico das Enteroparasitoses em Macapá - Amapá, Brasil. *Revista de Biologia e Ciências Da Terra*, 13(2), 66-73.
- Neves, D. P., Melo, A. L., Linardi, P. M. & Vitor, R.W. A. (2011). *Parasitologia humana*. (12a ed). Atheneu.
- Oliveira, R. O. & Lestingi, V. Acompanhamento anual da dinâmica das infecções por helmintos intestinais em cães: uma avaliação do protocolo de tratamento intestinal. *Coleção Sem Vermes*, 1(1).
- Pereira, C. A. S. & Costa, M. S. (2014). Avaliação do efeito antiparasitário de probióticos em primatas do velho mundo, mantidos em cativeiro, no Zoológico Municipal de Volta Redonda - RJ. *Cadernos UniFOA*, 26, 123-129.
- Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka R. (2018). Metodologia da pesquisa científica. Universidade Federal de Santa Maria. <https://repositorio.ufsm.br/handle/1/15824>.
- Sandoval, E., Morales, G., Ybarra, N., Barrios, N. & Borges, J. (2011). Comparación entre dos modelos diferentes de cámaras de McMaster empleadas para el conteo coproscópico en el diagnóstico de infecciones por nematodos gastroentéricos en rumiantes. *Zootecnia Tropical*, 29(4), 495-501.
- Santana, I. S. F., Silva, M. B., Rodrigues, T.C., Silva, M.S., Rego, C. O., Tomazi, L., Fraga, R. E. (2020). Tratamento de endoparasitas em primatas mantidos em cativeiros. In: Melchior, L. A. K., Malavazi, P. F. N. S., Camargo, L. M. A., Oliveira, J., Meneguetti, D. U. O. (Org.). *Atualidades em medicina tropical no Brasil: veterinária* (Vol. 1, pp. 258-273). Rio Branco: Stricto Senu Editora.
- Santos, J. L. C. (2008). *Parasitas de canídeos domésticos e silvestres da região do Parque Nacional da Serra do Cipó – Minas Gerais, Brasil*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil. https://bdt.ibict.br/vufind/Record/UFMG_220e95c01d0ae8eb87d5415a54cb2f63
- Scare, J. A., Slusarewicz, P., Noel, M. L., Wielgus, K. M., Nielsen, M. K. (2017). Evaluation of accuracy and precision of a smartphone based automated parasite egg counting system in comparison to the McMaster and Mini-FLOTAC methods. *Veterinary parasitology*, 247, 85-92.
- Silva, A. S., Coradini, V. P., Gressler, L. T., Soares, J. F., Lara, V. M., Carregaro, A. B. & Monteiro, S. G. (2008). Ocorrência de protozoários gastrintestinais em primatas mantidos em cativeiro na região sul do Brasil. *Ciência Rural*, 38(9).
- Silva, A. T., Massara, C. L., Murta, F. G. L., Oliveira, A. A. & Silva, F. O. L. (2013). Ovos de *Enterobius vermiculares* em sala de espera e banheiros de unidades básicas de saúde (UBS) do município de Nova Serrana – MG: Contribuições para o controle. *Revista Patologia Tropical*, 42(4), 425-433.
- Stuart, M. D., Strier, K. B. & Pierberg, S. M. A. (1993). Coprological Survey of Parasites of Wild Muriquis, Brachyteles arachnoids, and Brown Howling Monkeys, *Alouatta fusca*. *J. Helminthol. Soc. Wash*, 60(1), 111-115.
- Tarafder, M. R., Carabin, H., Joseph, L., Balolong, E. Jr., Olveda, R & McGarvey, S. T. (2010). Estimating the sensitivity and specificity of Kato-Katz stool examination technique for detection of hookworms, *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* infections in humans in the absence of a “gold standard”. *International Journal for Parasitology*, 40(4), 399-404.
- Vadlejch, J., Petrtyl, M., Zaichenko, I., Cadková, Z., Jankovská, I., Langrová, I., Moravec, M. (2011). Which McMaster egg counting technique is the most reliable? *Parasitology research*, 109(5), 1387-1394.

Whitlock, H. V. (1948). Some modifications of the Mc Master helminth egg counting technique and apparatus. *J. Counc. Sei. Ind. Res*, 21, 177-180.

Willis, H. H. (1921). A simple levitation method for the detection of lookworm ova. *Medical Journal of Australia*, 2, 375-376.