



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

EYLHA PRICILLA FERNANDES MENEZES

**QUANTIFICAÇÃO DE OOCISTOS E OVOS DE PARASITOS GASTRINTESTINAIS
DE CÃES POR MÉTODOS DE SEDIMENTAÇÃO E FLUTUAÇÃO**

MOSSORÓ
2019

EYLHA PRICILLA FERNANDES MENEZES

**QUANTIFICAÇÃO DE OOCISTOS E OVOS DE PARASITOS GASTRINTESTINAIS
DE CÃES POR MÉTODOS DE SEDIMENTAÇÃO E FLUTUAÇÃO**

Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Medicina veterinária.

Orientadora: Profa. Dra. Josivania Soares Pereira.

Co-orientadora: Esp. Médica Veterinária Brizza Zorayde Luz Lopes Rocha.

MOSSORÓ

2019

Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

MM534 Menezes, Eylha Pricilla Fernandes.

QUANTIFICAÇÃO DE OOCISTOS E OVOS DE PARASITOS GASTRINTESTINAIS DE CÃES POR MÉTODOS DE SEDIMENTAÇÃO E FLUTUAÇÃO.

Eylha Pricilla Fernandes Menezes. - 2019.

34 f. : il.

Orientador: Josivania Soares Pereira.

Coorientador: Brizza Zorayde Luz Lopes Rocha.

Monografia (graduação) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Curso de Medicina Veterinária, 2019.

1. Exames coproparasitológicos. 2. Mossoró-RN. 3. Zoonose.

I. Pereira, Josivania Soares, orient. II. Rocha, Brizza Zorayde Luz Lopes, co-orient. III. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

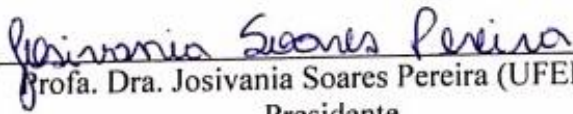
EYLHA PRICILLA FERNANDES MENEZES

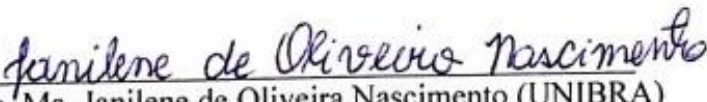
**QUANTIFICAÇÃO DE OOCISTOS E OVOS DE PARASITOS GASTRINTESTINAIS
DE CÃES POR MÉTODOS DE SEDIMENTAÇÃO E FLUTUAÇÃO**

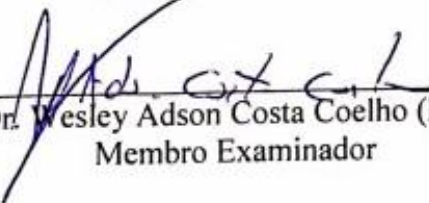
Monografia apresentada a Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como requisito
para obtenção do título de Bacharel em
Medicina Veterinária.

Defendida em: 11 / 03 / 2019.

BANCA EXAMINADORA


Profa. Dra. Josivania Soares Pereira (UFERSA)
Presidente


Profa. Ma. Janilene de Oliveira Nascimento (UNIBRA)
Membro Examinador


Prof. Dr. Wesley Adson Costa Coelho (FACENE)
Membro Examinador

MARGARIDA MARIA FERNANDES (In Memoriam).

Dedico esse trabalho à minha mãe Margarida Maria Fernandes (*in memoriam*), que me ensinou a lutar pelos meus sonhos e lá do céu sempre me guiando e cuidando de mim. Saudade eterna, mãe.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus que iluminou o meu caminho durante esta longa caminhada.

Agradeço ao meu pai João Paulino Filho, que sempre acreditou e apoiou e nunca perdeu a fé nos meus sonhos.

Agradeço a vocês, todas às minhas demais conquistas. Á minha irmã Érica Patricia Fernandes Menezes e meu irmão Herbert Rodrigo Fernandes Menezes, que falta vocês me fazem! E aos meus quatro preciosos sobrinhos José Emídio, Enzo Rodrigo, Maria Leticia e Maria Clara, meus melhores e maiores presentes.

Agradeço a minha professora e orientadora Josivania Soares Pereira, pois sem seus ensinamentos e conselhos não teria sido capaz de concluir mais essa jornada em minha vida.

A todos aqueles que de alguma forma estiveram e estão próximos de mim, fazendo esta vida valer cada vez mais a pena.

“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar”.

Josué 1:9

RESUMO

Os animais de companhia são considerados hospedeiros definitivos ou intermediários de vários parasitos e possuem alto potencial zoonótico, sendo responsáveis pela transmissão de diversas zoonoses para o ser humano. A realização de diagnóstico parasitológico em amostras de fezes de cães pode funcionar como bom indicador do nível de infecção gastrointestinal nestes hospedeiros e tem auxiliado na implementação de medidas adequadas de tratamento, bem como manejo que visem o controle ou eliminação de parasitos. Dentre as técnicas existentes, existe as que permitem a observação e quantificação de oocistos de protozoários e ovos de helmintos, a exemplo das análises diretas, sedimentação de Hoffman, flutuação de Willis Mollay e Mini-FLOTAC. Considerando que em Mossoró, Rio Grande do Norte, os cães apresentam alta mortalidade em detrimento do parasitismo, o presente trabalho objetivou verificar quatro técnicas para quantificar a eliminação de ovos e oocistos de endoparasitos em cães naturalmente infectados. Para as análises, as amostras de fezes foram obtidas de 40 cães, independente da raça, sexo e idade, tendo como premissa o animal ter ausência de vermifugação há, no mínimo, 3 meses. As fezes foram obtidas dos animais através de eliminação espontânea e foram acondicionadas individualmente e transportadas ao Laboratório de Parasitologia Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (LPA-UFERSA) para posterior diagnóstico. Cada uma das amostras coletadas passou por análise direta, flutuação de Willis-Mollay, Mini-FLOTAC e sedimentação. Os oocistos e ovos foram identificados através da morfologia e com auxílio de chaves taxonômicas específicas. Os dados obtidos a partir das análises coproparasitológicas foram expressos em valores de média e desvio padrão através do programa estatístico SPSS versão 21.0. Após análise dos pressupostos paramétricos, diferenças estatísticas entre técnicas foram obtidas por Friedman e Kruskal-Wallis. A concordância entre as técnicas foi avaliada através do valor Kappa. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. Das análises realizadas nos 40 animais detectou-se positividade para ovos do tipo *Ancylostoma* spp., *Dipylidium caninum*, *Toxocara* spp. e oocistos de *Cystoisospora canis*. A técnica de Mini-FLOTAC obteve maior potencial de recuperação ovos de *Ancylostoma* spp. e *D. caninum* em relação as outras técnicas testadas. Para *Cystoisospora canis* e *Toxocara* spp., as técnicas testadas foram iguais. As técnicas de exame direto e de sedimentação apresentaram capacidade igual para recuperar *Ancylostoma* spp. e *D. caninum*. Para as técnicas testadas, o Mini-FLOTAC apresentou maior eficácia de recuperação de ovos e oocistos, seguido do Willis Mollay, que embora tenha sido menor, apresentou igual potencial de detectar positividade de ovos e oocistos. O uso de mais de uma técnica para diagnóstico parasitológico é recomendado, uma vez que um único método pode não revelar o verdadeiro parasitismo, especialmente considerando que, em muitos casos, os animais apresentam parasitismo múltiplo.

Palavras-chave: Exames coproparasitológicos. Mossoró-RN. Zoonose.

ABSTRACT

The companion animals are considered definitive hosts or intermediates of several parasites and have high zoonotic potential, being responsible for the transmission of several zoonoses to the human being. The performance of parasitological diagnosis in samples of faeces from dogs can function as a good indicator of the level of gastrointestinal infection in these hosts and has assisted in the implementation of appropriate treatment measures as well as management aimed at the control or elimination of parasites. Among the existing techniques, there are those that allow the observation and quantification of protozoan oocysts and helminth eggs, such as direct analyzes, Hoffman sedimentation, Willis Mollay flotation and Mini-FLOTAC. Considering that dogs present high mortality in Mossoró, Rio Grande do Norte, in detriment of parasitism, the present work aimed to verify four techniques to quantify the elimination of eggs and oocysts of endoparasites in naturally infected dogs. For the analysis, stool specimens were obtained from 40 dogs, regardless of race, sex and age, with the premise that the animal had no vermifugation for at least 3 months. The faeces were obtained from the animals through spontaneous elimination and were individually conditioned and transported to the Laboratory of Animal Parasitology of the Federal Rural do Semi-Árido University (LPA-UFERSA) for later diagnosis. Each of the samples collected underwent direct analysis, Willis-Mollay flotation, Mini-FLOTAC and sedimentation. Oocysts and eggs were identified through morphology and with the aid of specific taxonomic keys. The data obtained from the coproparasitological analyzes were expressed in values of mean and standard deviation using the statistical program SPSS version 21.0. After analyzing the parametric assumptions, statistical differences between techniques were obtained by Friedman and Kruskal-Wallis. The agreement between the techniques was evaluated through the Kappa value. Values of $p < 0.05$ were considered significant. From the analyzes performed on the 40 animals, positivity was detected for *Ancylostoma* spp., *Dipylidium caninum*, *Toxocara* spp., and *Cystoisospora canis* oocysts. The Mini-FLOTAC technique obtained higher potential for recovery of eggs of *Ancylostoma* spp. and *D. caninum* compared to the other techniques tested. For *Cystoisospora canis* and *Toxocara* spp., the techniques tested were the same. The direct examination and sedimentation techniques showed equal capacity to recover *Ancylostoma* spp. and *D. caninum*. For the techniques tested, the Mini-FLOTAC showed a greater efficiency of egg and oocyst recovery, followed by Willis Mollay, which, although smaller, had the same potential to detect eggs and oocysts positivity. The use of more than one technique for parasitological diagnosis is recommended, since a single method may not reveal true parasitism, especially considering that, in many cases, animals have multiple parasitism.

Keywords: Coproparasitological examinations. Mossoró-RN. Zoonosis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– A: Processamento da amostra biológica; B: Análise das amostras em microscopia óptica de luz.....	23
Figura 2	– A: Ovos de <i>Ancylostoma</i> spp.; B: Ovos de <i>Toxocara</i> spp.; C: Ovos de <i>Dipylidium caninum</i> e D: Oocisto de <i>Cystoisospora canis</i> (Objetiva 20x).....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Valores de média $\pm$ desvio padrão da contagem dos ovos e oocistos recuperados nos animais (N=40) estudados	24
Tabela 2	- Valores de média $\pm$ desvio padrão dos ovos dos helmintos e oocistos de protozoários recuperados nos animais estudados (N=40)	26
Tabela 3	- Valores de média $\pm$ desvio padrão dos ovos dos helmintos e oocistos de protozoários recuperados entre as categorias dos animais estudados (N=40)	27
Tabela 4	- Valores de concordância kappa (p-valor) entre as técnicas estudadas	27

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	Endoparasitos que acometem cães	15
2.1.1	<i>Ancylostoma</i> spp. (Ercolani, 1859)	15
2.1.2	<i>Toxocara</i> spp. (Werner,1782)	16
2.1.3	<i>Trichuris vulpis</i> (Froelich, 1789)	16
2.1.4	<i>Dipylidium caninum</i> (Linnaeus, 1758)	17
2.1.5	<i>Cystoisospora canis</i> (Nemeséri, 1959)	17
2.1.6	<i>Giardia</i> spp. (Adam, 1991)	18
2.2	Formas de diagnóstico de endoparasitas em cães	18
2.2.1	Método Direto (Hoffmann, 1987)	18
2.2.2	Técnica de Mini-FLOTAC (CRINGOLI et al., 2013)	19
2.2.3	Método de Sedimentação simples (Hoffmann, Pons e Janer, 1934)	19
2.2.4	Método de Willis-Mollay (Willis-Mollay, 1921)	20
3	OBJETIVOS	21
3.1	Objetivo geral	21
3.2	Objetivo específico	21
4	METODOLOGIA	22
4.1	Caracterização da localidade das amostragens	22
4.2	Animais experimentais	22
4.3	Aspectos éticos	22
4.4	Coletas das fezes e exames coproparasitológicos.....	22
4.5	Identificação de ovos e oocistos	23
4.6	Análise dos dados	23
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
6	CONCLUSÃO.....	29
	REFERÊNCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

Os animais de estimação vêm apresentando um importante papel entre os humanos e são considerados como membros da família. A ampla distribuição dos cães e gatos nos lares do mundo inteiro e a íntima relação destes com os seres humanos, fez com que compartilhassem de forma indesejável alguns parasitas, incluindo helmintos e protozoários. Com o crescimento da população animal na sociedade contemporânea sugere-se um aumento do risco a exposição das pessoas a esses agentes parasitários, o que constitui o importante problema a saúde pública (GALVANI et al., 2017; BRICARELLO et al., 2018; HEILMANN et al., 2018; REGINALDO et al., 2019).

Animais infectados com endoparasitos podem ser assintomáticos e portadores, o que favorece a contaminação ambiental e o estabelecimento de zoonoses. O homem pode contrair a infecção através do contato direto com os animais ou pela ingestão de água e alimentos contaminados. Este fato contribui para o desencadeamento das parasitoses gastrintestinais comuns em cães e gatos que podem, inclusive, afetar o homem (SOARES et al., 2018).

O meio ambiente pode ser um importante veiculador de doenças, tanto para os seres humanos como para os animais, pois ele pode oferecer condições necessárias para que haja manutenção de ciclos parasitários. É também importante para o controle e implementação de medidas profiláticas que visem o não uso de medicamentos de forma indiscriminada e que contribuam para o aparecimento da resistência parasitária nestes animais (JESUS et al., 2015; SILVA et al., 2017; MARTINS et al., 2018). A realização de técnicas de diagnóstico coproparasitológico em pequenos animais, especificamente cães, é importante para o conhecimento da real infecção parasitária para estabelecer o tratamento correto a ser prescrito de forma a controlar ou até mesmo eliminar o agente desencadeador da parasitose.

Para diagnóstico coproparasitológico em cães, técnicas qualitativas e quantitativas de sedimentação e flutuação podem ser usadas. Dentre esses métodos existem os de Mini-FLOTAC (CRINGOLI et al., 2013), sedimentação (HOFFMAN et al., 1934), exame direto (HOFFMAN, 1987) e flutuação (WILLIS MOLLAY, 1921). Apesar de existirem diversas técnicas de diagnóstico coproparasitológicos na rotina laboratorial, deve-se sempre optar por uma que apresente alta sensibilidade, que seja rápida e de fácil execução, além de ter um baixo custo operacional (SILVA et al., 2018).

Considerando a alta casuística de endoparasitos registrada para os cães de Mossoró, Rio Grande do Norte (COELHO et al., 2007; AHID et al., 2009), faz-se necessário um estudo

de avaliação de técnicas de diagnóstico para contagem de ovos e oocistos fecais nesta localidade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Endoparasitos que acometem cães

No Brasil, alguns estudos foram realizados para avaliar a prevalência dos principais enteroparasitos em cães errantes ou domésticos, mostrando prevalências variadas para os principais parasitos, como *Ancylostoma* spp., *Toxocara canis*, *Trichuris vulpis* e *Giardia* spp. (OLIVEIRA-SEQUEIRA et al., 2002; SILVA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009; COELHO et al., 2011)

No Rio Grande do Norte, os cães são acometidos por endoparasitos que incluem *Ancylostoma caninum*, *Dipylidium caninum*, *Toxocara* spp., *Trichuris vulpis*, *Cystoisospora canis* e *Giardia* spp.

Para este Estado existem registros destes endoparasitos nestes hospedeiros em Mossoró, por Ahid et al. (2009), no município de Apodi notificado por Ferreira et al. (2010) e em Natal por Junior et al. (2015).

2.1.1 *Ancylostoma* spp. (Ercolani, 1859)

É um Nematoda pertencente à família Ancylostomatidae. Apresenta cápsula bucal subglobulosa, com três pares de dentes situados na margem ventral do orifício oral. Tem coloração branco acinzentada e as vezes avermelhada. Seus ovos chegam ao meio ambiente junto com as fezes do hospedeiro. Na massa fecal, as larvas se desenvolvem até a fase infectante (larva em estágio 3 - L3) que migram para fora da massa fecal e vão contaminar a superfície do solo. As L3 podem contaminar os seus hospedeiros através da via oral, cutânea e mamária (BOWMAN et al., 2010).

Os hospedeiros jovens podem apresentar perda de sangue e diarreia. Os filhotes podem vir a óbito antes que os ovos apareçam nas fezes. Os hospedeiros adultos podem não apresentar a doença pelo *A. caninum* já que a resposta medular compensa a perda de sangue (OLIVEIRA et al., 2008).

Do ponto de vista da Saúde Pública, a situação mais comum relacionada com os ancilostomídeos é o acometimento de humanos por larva migrans cutânea (LMC), uma dermatite causada pela migração de larvas de nematódeos, caracterizada por erupções na pele devido a penetração e migração de larvas pelo tecido subcutâneo durante algumas semanas ou meses, até morrerem (OLIVEIRA et al., 2008; OLIVEIRA-ARBEX et al., 2017).

No Brasil, esta dermatite é ocasionada especialmente pelas larvas de *Ancylostoma brasilienses* e *Ancylostoma caninum*, presentes em areias contaminadas, ocorrendo maior presença em regiões litorâneas, de clima subtropical e tropical (MATESCO et al., 2006).

2.1.2 *Toxocara* spp. (Werner, 1782)

É um Nematoda pertencente à família Toxocaridae caracterizado por apresentar dimorfismo sexual nítido, com machos de extremidade posterior recurvada no sentido ventral. Em ambos os sexos, há na extremidade anterior asas cefálicas estreitas. Sua forma infectante inclui um ovo contendo uma larva do tipo L3 que pode infectar os seus hospedeiros através das vias: oral (ingestão de ovos e hospedeiros paratênicos), mamária e transplacentária (DESPOMMIER, 2003; FOREYT, 2005; OTERO et al., 2014).

O parasitismo humano pode ser consequência da ingestão acidental de ovos infectantes de *T. canis*, eliminados no solo juntamente com as fezes dos seus hospedeiros naturais bem como da ingestão de hospedeiros paratênicos infectados. A larva liberada no intestino delgado penetra a parede intestinal migrando para as vísceras em geral, nas quais exerce suas ações patogênicas. Entre os múltiplos quadros clínicos que produz, incluindo os casos assintomáticos, salientam-se manifestações alérgicas, eosinofilia, fraqueza crônica, dor abdominal, além da forma visceral clássica da doença, marcada pelo comprometimento hepático e pulmonar (toxocaríase visceral) e a forma ocular (toxocaríase ocular), o que pode levar a cegueira (PADHI et al., 2017).

A prevalência da contaminação por *Toxocara* spp. é alta em países tropicais e em desenvolvimento. A frequência de anticorpos anti *Toxocara* spp. de acordo com estudos concretizados no Brasil, varia de 12,1%, em Jaboatão dos Guararapes, PE a 54,8%, em São Paulo, SP, enquanto a infecção por ovos desse nematódeo, em áreas de lazer no Brasil, variou de 17,5%, em Botucatu, SP a 91,7%, em Santa Maria, RS (CORRÊA et al., 1995; SANTARÉM et al., 1998; COELHO et al., 2005; FIGUEIREDO et al., 2005).

2.1.3 *Trichuris vulpis* (Froelich, 1789)

É um Nematoda pertencente à família Trichuridae, encontrado no intestino grosso de cães e outros canídeos silvestres. As fêmeas fazem uma ovipostura diária de ovos que são eliminados com as fezes do hospedeiro e permanecem no meio externo para tornarem-se infectantes (BOWMAN et al., 2010).

As fontes de infecção são: o solo e os cursos de águas contaminados com os ovos do parasita. O modo de transmissão se dá através da ingestão de água e alimentos contaminados com ovos contendo uma larva em estágio 1 – L1 (forma infectante). As infecções, em sua maioria, são leves e assintomáticas. Ocasionalmente, quando presentes em grandes quantidades, os vermes causam uma inflamação diftérica da mucosa cecal. Isso resulta da localização subepitelial e do movimento contínuo da extremidade anterior do parasita em busca de sangue e líquido (FORTES, 2004).

No Brasil não existem muitos experimentos sobre a prevalência desta verminose, um dos poucos estudos sobre o assunto, desenvolvida por Fischer (2003), averiguando a prevalência de helmintos em 51 cães originários da rotina clínica e cirúrgica do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (HCV-UFRGS) através de diagnóstico post-mortem durante os anos de 1998 a 2000, verificou que do total de animais analisados, 47% apresentaram *T. vulpis*.

2.1.4 *Dipylidium caninum* (Linnaeus, 1758)

É um Cestoda, pertencente à família Dilepididae. Caracteriza-se por apresentar escólex com rostelo protrátil, guarnecido com quatro ou cinco fileiras de pequenos ganchos. Apresenta ciclo de vida indireto, com presença de pulgas e piolhos como hospedeiros intermediários, nos quais ocorre a evolução do seu segundo estágio de desenvolvimento. Este segundo estágio larval, quando ingeridos pelo hospedeiro definitivo, desenvolve-se em adultos, parasitos do intestino (BOWMAN et al., 2010).

Existe uma discrepância muito grande quanto a prevalência de *D. caninum* na literatura, sendo ora elevada quando o diagnóstico é feito pelo encontro do parasito em necropsias, sendo muito baixa quando detectado por exames coproparasitológicos (ADOLPH et al., 2017).

O potencial de transmissão zoonótico do *D. caninum* possui ampla distribuição geográfica, sendo assim tem como importância proteger cães (CHAPPELL C., 1990; DE AVELAR et al., 2007).

2.1.5 *Cystoisospora canis* (Nemeséri, 1959)

É um protozoário, coccídio pertencente à família Eimeriidae. A infecção de seus hospedeiros (cães, gatos) ocorre pela ingestão de alimento ou água contaminados com

oocistos esporulados. Após ingeridos, desenvolvem-se através de reprodução assexuada por esquizogônia e sexuada por gametogônia, no intestino destes animais. Estes ao serem infectados apresentam como resultado do parasitismo perda de peso provocada pela má absorção dos nutrientes, diarreia e até atrofia da mucosa intestinal (FORTES, 2004; BOWMAN et al., 2010; ESCCAP, 2018).

A isosporose em cães é uma infecção que atinge cães em todo o mundo. A longa sobrevivência dos oocistos e sua alta habilidade de sobreviver a desinfecção mantêm a população de cães sob risco permanente (BUEHL et al., 2006).

2.1.6 *Giardia* spp. (Adam, 1991)

É um protozoário Sarcomastigophora pertencente à família Hexamitidae. Apresenta dois estágios bem definidos em seu ciclo de vida, o trofozoíto e o cisto (forma infectante). Os cistos têm resistência ao ambiente e permanecem viáveis por vários meses, principalmente em locais úmidos. Os cistos, no intestino de seus hospedeiros, sofrem desencistamento e liberam trofozoítos que se multiplicam assexuadamente e por divisão binária (LEAL, 2015).

Possui grande importância em saúde humana e animal porque o parasito é agente causador de diarreia, podendo contribuir para a ocorrência de deficiências nutricionais e dificuldade de ganho de peso (CUNHA et al., 2013).

No Brasil, a giardíase, criptosporidiose e a isosporose são doenças com elevada prevalência em caninos domésticos, sendo os animais jovens os que mais sofrem com a parasitose (SILVA et al., 2008).

2.2 Formas de diagnóstico de endoparasitos em cães

2.2.1 Método Direto (Hoffmann, 1987)

Adiciona-se 2 gotas de solução salina a 0,85% a uma pequena amostra de fezes. Realiza-se a homogeneização do material. Sobre lâmina de vidro, adiciona-se lugol 1% e recobre a amostra com lamínula. A lâmina pronta e montada deve ser analisada através de microscopia óptica de luz (HOFFMANN, 1987).

Esta técnica possui como principal vantagem a necessidade mínima de materiais e recursos financeiros e desvantagem de apresentar uma grande quantidade de detritos fecais no sedimento, dificultando a preparação e o exame microscópico (DE CARLI; TASCA, 2001).

2.2.2 Técnica de Mini-FLOTAC (CRINGOLI et al., 2013)

A técnica de Mini-FLOTAC consiste numa variação do FLOTAC, onde sua principal característica é a remoção da etapa de centrifugação, projetado para aumentar a velocidade e simplicidade na contagem de ovos (VIEIRA et al., 2016).

Segundo Cringoli et al. (2013), para execução do Mini-FLOTAC em fezes sem conservantes provenientes de cães, pode-se usar 2 gramas da referida amostra biológica em 18ml de solução hipersaturada de cloreto de sódio (gravidade 1.200), seguido de homogeneização. Após tamisação da amostra, a solução resultante deverá ser transferida para uma câmara de Mini-FLOTAC que será posteriormente lida em microscopia óptica de luz.

Esta técnica é um teste quantitativo de baixo custo, multivalente, sensível, preciso e de fácil execução para ser usado como método de diagnóstico de rotina (SILVA et al., 2013).

No Brasil, considerando análises por Mini-FLOTAC em cães foi feita esta técnica em estudos realizados em Pernambuco por Lima et al. (2015) e considerando urina, por Maurelli et al. (2014).

2.2.3 Método de Sedimentação simples (Hoffmann, Pons e Janer, 1934)

A sedimentação pode ser realizada através de processos de lavagens em água destilada e com o uso de peneiras e cálices de sedimentação. Tem como princípio a sedimentação de ovos. A técnica consiste em diluir 5 a 10 gramas de fezes em 200 ml de solução fisiológica ou água destilada; tamisar a suspensão diretamente no cálice de sedimentação e deixar em repouso de 20 a 30 minutos; decantar o líquido sobrenadante e adicionar ao sedimento 200 ml de solução fisiológica ou água destilada. Segundo Monteiro (2011), é considerada uma técnica qualitativa, sendo utilizada para identificação de ovos pesados de Trematoda e Cestoda.

Após realização de no mínimo duas lavagens (decantação das fezes no cálice de sedimentação e descarte do líquido sobrenadante, seguido de novo preenchimento com água destilada até metade do cálice de sedimentação) da amostra fecal, deve-se coletar com pipeta Pasteur plástica algumas gotas do sedimento, este deve ser examinado ao microscópio para busca de ovos e oocistos de endoparasitos (HOFFMANN, 1934).

Esta técnica de sedimentação espontânea tem como objetivos detectar o aumento da concentração de ovos operculados e não-operculados, larvas ou cistos e o isolamento de óleos e gorduras da maior parte dos detritos. Os organismos nessa técnica, são sedimentados

por igual pela gravitação, o que possibilita a observação de ovos e larvas de helmintos, bem como cisto (DE CARLI, 2007).

2.2.4 Método de Willis-Mollay (Willis-Mollay, 1921)

Segundo Monteiro (2011), é uma técnica qualitativa que tem como objetivo possibilitar a identificação da existência de ovos de nematoides, cistos e oocistos de protozoários. Esta técnica de flutuação também tem como objetivo identificar ovos de ovos platelmintos, a exemplo de *Moniezia* spp. A solução de flutuação a ser empregada pode apresentar densidade 1:1200. Ovos com densidade inferior a mencionada, tendem a subir, aderindo a superfície inferior da lâmina.

O método de Willis Mollay consiste em homogeneizar de 2 a 9 gramas de fezes em 20 ml de solução hipersaturada de açúcar ou sal com auxílio de bastão de vidro. A solução preparada deve ser tamisada em recipiente de vidro e em seguida transferida para tubo de ensaio ou copo de Borel até produção de menisco convexo. Sobre o mesmo deve ser colocado uma lamínula de vidro. Deixar em repouso por 15 minutos e em seguida realizar a remoção da lamínula, que trará em sua superfície uma gota pendente, e deve ser posta sobre uma lâmina de vidro. A lâmina montada deve ser examinada em microscopia óptica de luz (WILLIS MOLLAY, 1921).

Este método é tradicionalmente utilizado para ovos pesados e leves, sendo a técnica relatada por diversos autores por apresentar ótimos resultados em pesquisas de ovos, cistos e oocistos (TÁPARO et al., 2006; REY, 2011).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Verificar técnicas de sedimentação e flutuação na quantificação de ovos e oocistos de parasitos gastrintestinais de cães de Mossoró, RN, Brasil.

3.2 Objetivo específico

- a) Verificar a prevalência de ovos e oocistos dos parasitos obtidos;
- b) Averiguar se existe diferença na quantificação de ovos e oocistos recuperados;
- c) Analisar o grau de concordância da positividade entre as técnicas testadas;
- d) Comparar a quantidade de ovos e oocistos encontrados entre as faixas etárias e para cada técnica testada.

4 METODOLOGIA

4.1 Caracterização da localidade das amostragens

O município de Mossoró situa-se na mesorregião Oeste Potiguar, limitando-se com os municípios de Tibau, Grossos, Areia Branca, Serra do Mel, Açu, Upanema, Governador Dix-Sept Rosado, Baraúna e o Estado do Ceará, abrangendo uma área de 2.100 km², na escala 1:100.000. A sede do município tem uma altitude média de 16 m e apresenta coordenadas 05°11'16,8" de latitude sul e 37°20'38,4" de longitude oeste, distando da capital cerca de 277 km, sendo seu acesso, a partir de Natal, efetuado através da rodovia pavimentada BR-304 (BELTÃO et al., 2005).

4.2 Animais experimentais

Foram usadas amostras de fezes caninas de 40 animais independente da raça, sexo e idade, provenientes de Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. Teve-se como premissa o animal ter ausência de vermifugação há, no mínimo, 3 meses.

4.3 Aspectos éticos

Todos os procedimentos de manipulação e coleta de fezes dos animais foram executados conforme as recomendações propostas pela Comissão de Ética no uso de animais em pesquisa da UFERSA (Parecer 17/2018, processo n. 23091.007409/2018-70).

4.4 Coletas das fezes e exames coproparasitológicos

As amostras de fezes foram obtidas dos cães através da eliminação espontânea. Cada amostra foi depositada em recipiente plástico com tampa, etiquetado, identificado e transportado ao Laboratório de Parasitologia Animal (LPA) da UFERSA. Cada uma das amostras foi analisada no prazo máximo de 24 horas através das técnicas de Mini-FLOTAC (CRINGOLI et al., 2013), sedimentação simples (HOFFMAN et al., 1934), exame direto (HOFFMAN, 1987) e flutuação (WILLIS MOLLAY, 1921) (Figura 1).

Figura 1- A: Processamento da amostra biológica; B: Análise das amostras em microscopia óptica de luz.



Fonte: dados do autor

4.5 Identificação de ovos e oocistos

Os ovos e oocistos foram identificados até gênero, através da morfologia, auxiliada pela microscopia óptica de luz e com o uso de literatura específica (FORTES et al., 1997; FOREYT et al., 2005; BOWMAN et al., 2010).

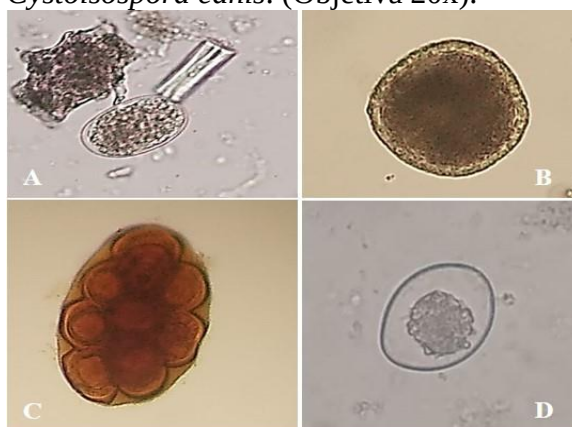
4.6 Análise dos dados

Os dados obtidos a partir das análises coproparasitológicas foram expressos em valores de média e desvio padrão através do programa estatístico SPSS versão 21.0. Após análise dos pressupostos paramétricos, diferenças estatísticas entre técnicas foram realizadas por Friedman e Kruskal-Wallis. A concordância entre as técnicas foram avaliadas através do valor Kappa. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das amostras analisadas, observou-se ovos de *Ancylostoma* spp., *Toxocara* spp., *Dipylidium caninum*, além de oocistos de *Cystoisospora canis* (Figura 2). Júnior et al. (2015) realizaram um estudo em Natal, Rio Grande do Norte (RN) com animais domiciliados e errantes, onde encontrou dados semelhantes aos do presente trabalho.

Figura 2 - A: Ovo de *Ancylostoma* spp.; B: Ovos de *Toxocara* spp.; C: Ovo de *Dipylidium caninum* e D: Oocisto de *Cystoisospora canis*. (Objetiva 20x).



Fonte: dados do autor

Dos 40 animais analisados através da comparação das quatro técnicas, verificou-se que houve diferença estatística entre algumas delas. A técnica de Mini-FLOTAC apresentou a maior média de recuperação de ovos em relação a todas as técnicas testadas (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores de média $\pm$ desvio padrão da contagem dos ovos e oocistos recuperados nos animais (N=40) estudados

Willis Mollay	Direto	Sedimentação	Mini-FLOTAC
101,38 $\pm$ 212,66b	1,43 $\pm$ 3,4c	6,15 $\pm$ 21,93c	308,13 $\pm$ 606,51a

N = Número total de animais avaliados

a,b,c = Letras minúsculas diferentes significa diferença estatística ($p < 0,05$ – Friedman)

O uso de quatro métodos de diagnóstico contribui para a alta positividade observada; além disso, o Mini-FLOTAC já foi provado ter alta sensibilidade em relação aos métodos clássicos (CRINGOLI et al., 2011; MAURELLI et al., 2014).

Segundo Menezes et al. (2013), o Mini-FLOTAC foi a técnica que mais recuperou ovos e oocistos em relação a Willis Molay, entretanto, assim como na presente pesquisa elas

foram concordantes. Cringoli et al. (2010) e Godber et al. (2015) afirmaram que o Mini-FLOTAC é uma ferramenta de diagnóstico confiável, oferecendo erro de medição reduzido e maior nível de precisão, aumentando de cinco a 10 vezes a possibilidade de detecção ovos e oocistos, quando comparado as técnicas clássicas.

Através da técnica de Willis Mollay foram recuperados ovos de *Ancylostoma* spp., *Toxocara* spp., além de oocistos de *C. canis*, com exceção de *D. caninum*. De todos os parasitas encontrados através da referida técnica, observou-se maior número de *Ancylostoma* spp., seguido de *C. canis* e *Toxocara* spp. Ao comparar a técnica de Willis Mollay com a técnica direta, bem como o método direto com sedimentação observou-se que elas são diferentes para ovos de *Ancylostoma* spp. (Tabela 2).

O método de exame direto empregado possibilitou a recuperação de *Ancylostoma* spp., *C. canis*, *D. caninum* e *Toxocara* spp. Assim como na técnica de Willis Mollay, observou-se maior número de *Ancylostoma* spp. em relação a *C. canis*, *Toxocara* spp. e *D. caninum* (Tabela 2).

Através da técnica de sedimentação simples permitiu-se verificar a recuperação de todos os ovos de helmintos e oocistos de protozoários pesquisados. Considerando esta técnica e todos os ovos e oocistos recuperados, houve diferença somente para os ovos do tipo *Ancylostoma* spp. (Tabela 2).

Os ovos de trematoda e cestoda são detectados facilmente através de técnicas de sedimentação, enquanto os oocistos são facilmente identificados através de técnicas de flutuação (DRYDEN et al. 2005; KATAGIRI ;OLIVEIRA-SEQUEIRA, 2010).

Na técnica de Mini-FLOTAC também foi possível observar todos os parasitas e helmintos analisados, sendo que estes foram observados em maior número em relação a todas as outras técnicas testadas. Dos animais positivos, observou-se um maior número de ovos de *Ancylostoma* spp., seguido de *D. caninum*, *C. canis* e *Toxocara* spp. (Tabela 2).

Segundo Lima et al. (2015), de acordo com ponto de vista prático, a técnica de Mini-FLOTAC é uma excelente opção para ser usado na rotina de laboratório porque é facilmente realizado e possui um sistema de conservação de amostras que protege operador e permite uma análise detalhada.

Tabela 2 – Valores de média $\pm$ desvio padrão dos ovos dos helmintos e oocistos de protozoários recuperados nos animais estudados (N=40)

Parasitas	Técnicas			
	Willis Mollay	Direto	Sedimentação	Mini-FLOTAC
<i>Ancylostoma</i> spp.	101,38 $\pm$ 212,66Ab	1,43 $\pm$ 3,4Ac	6,15 $\pm$ 21,93Ac	258,25 $\pm$ 555,98Aa
<i>Cystoisospora canis</i>	0,63 $\pm$ 2,94Ba	0,1 $\pm$ 0,63Ba	0,08 $\pm$ 0,47Ba	2,13 $\pm$ 10,18Ba
<i>Toxocara</i> spp.	0,03 $\pm$ 0,16Ba	0,23 $\pm$ 1,42Ba	0,45 $\pm$ 2,85Ba	1,63 $\pm$ 10,28Ba
<i>Dipylidium caninum</i>	0	0,08 $\pm$ 0,47Bb	0,05 $\pm$ 0,32Bb	46,13 $\pm$ 291,72Ba

A,B,C = Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna, significa diferença estatística ($p < 0,05$ – Friedman)
a,b,c = Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha significa diferença estatística ($p < 0,05$ – Friedman)

Silva (2016) em Araçatuba, São Paulo, registrou que de todos os parasitos encontrados, o mais observado foi *Ancylostoma* spp. o que corrobora com os dados da presente pesquisa.

Outros estudos, em áreas urbanas no Brasil, corroboram com o presente trabalho que confirmam que as taxas de parasitas de cães mais prevalentes encontradas são *Ancylostoma* spp. e *Toxocara* spp. (OLIVEIRA SEQUEIRA et al., 2002; BALASSIANO et al., 2009; KLIMPEL et al., 2010; HEUKELBACH et al., 2012).

A alta prevalência de *Ancylostoma* spp. pode ser explicada por dois principais motivos: devido à grande tolerância dos estágios de vida livre às diferentes condições ambientais, explicando a ampla distribuição geográfica destes parasitas; e a habilidade destes infectarem cães de todas as faixas etárias (BOAG et al., 2003). Esta informação sobre a ocorrência, se torna relevante pois o ancilostomídeo, causador da larva migrans cutânea, tem um alto potencial zoonótico (IDIKA et al., 2017).

Ovos de *D. caninum* foram recuperados através de todas as técnicas empregadas, exceto Willis Molay. A ausência de observação dos ovos destes ascarídeos através da técnica de flutuação usada, pode ser justificada pela alta densidade dos mesmos o que não permite que estes ovos flutuem e assim possam ser observados. Táparo et al. (2006), no entanto, recomendaram a associação das técnicas de Willis Mollay e de sedimentação simples para o diagnóstico de helmintos gastrintestinais em cães, devido ao fato de que o método de sedimentação apresentou maior eficácia para diagnóstico de *D. caninum*.

Ao considerar a categoria dos animais, observou-se que nenhuma das técnicas diferiram quanto a capacidade de recuperar ovos e oocistos (Tabela 3). Sugere-se que, o fato de não ter observado diferenças entre as categorias analisadas, possa estar relacionado ao número de amostras biológicas estudadas. É possível que, se estudos futuros forem realizados

com um maior número de amostras, a diferença de parasitos entre jovens e adultos seja observada. Diferenças entre estas categorias é esperada pois normalmente animais jovens apresentam uma maior suscetibilidade ao parasitismo em relação a animais adultos que já possuem imunidade desenvolvida.

Tabela 3 – Valores de média $\pm$ desvio padrão dos ovos dos helmintos e oocistos de protozoários recuperados entre as categorias dos animais estudados (N=40)

Parasitos	Técnicas			
	Willis	Direto	Sedimentação	Mini-FLOTAC
Fêmeas adultas (N=14)	114 $\pm$ 268,74A	1,57 $\pm$ 2,77A	1,71 $\pm$ 3,12A	504,64 $\pm$ 939,37A
Fêmeas jovens (N=6)	27 $\pm$ 64,19A	3,83 $\pm$ 6,15A	19,67 $\pm$ 40,01A	85,83 $\pm$ 172,9A
Machos adultos (N=17)	94,65 $\pm$ 155,1A	0,65 $\pm$ 2,03A	1,41 $\pm$ 2,45A	238,24 $\pm$ 325,19A
Machos jovens (N=3)	238 $\pm$ 401,88A	5,67 $\pm$ 7,37A	34,33 $\pm$ 56,89A	231,67 $\pm$ 218,88A

N= Número total de animais; A,B, Letras maiúsculas na coluna significa diferença estatística ($p < 0,05$ - Kruskal – Wallis)

Alves et al. (2005), relatam que a frequência de ovos de parasitos intestinais, de acordo com o sexo dos cães de residências e de rua examinados, não foi estatisticamente significativa ($P > 0,05$), sendo que, dos machos, 14,93% (33/221) foram positivos, e das fêmeas, 15,19% (31/204). Já Oliveira et al. (1990), observaram maior parasitismo nos animais jovens de até 1 ano de idade. Fatos estes discordam dos dados da presente pesquisa.

Ao realizar a análise da concordância entre técnicas testadas, observou-se que Mini-FLOTAC e Willis Mollay são iguais independente de ovos e oocistos encontrados, tendo assim um índice de concordância perfeito. Ao comparar as técnicas de exame direta com Willis Mollay e Mini-FLOTAC, a concordância entre eles foi moderada. Ao comparar as técnicas de sedimentação com Willis Mollay, bem como método direto com o de sedimentação, o valor de Kappa é interpretado como forte (Tabela 4).

Tabela 4 – Valores de concordância kappa (p-valor) entre as técnicas estudadas

Testes	Willis Mollay	Direto	Sedimentação
Direto	0,47 ($<0,001$)*	-	
Sedimentação	0,71 ($<0,001$)*	0,61 ($<0,001$)*	-
Mini-FLOTAC	1,0 ($<0,001$)*	0,47 ($<0,001$)*	0,71 ($<0,001$)*

* Significância estatística

O emprego de diferentes técnicas coproparasitológicas constitui a primeira providência capaz de identificar a presença de parasitos nesses animais e existem várias opções de técnicas diagnósticas que podem ser empregadas, cada uma com vantagens e limitações. Todavia, sabe-se que nenhuma das técnicas disponíveis é capaz de detectar todas as infecções quando empregadas isoladamente (OLIVEIRA-SEQUEIRA et al., 2002).

No presente trabalho, ao se comparar a eficácia dos métodos de flutuação Willis-Molay e Mini-FLOTAC para diagnóstico de parasitos de fezes, observou-se que os mesmos se mostraram equivalentes, contudo o Mini-FLOTAC apresentou maior potencial de recuperação de oocistos e ovos em relação as todas as outras técnicas estudadas.

6 CONCLUSÃO

Através das técnicas empregadas, na presente pesquisa, obteve-se ovos de helmintos *Ancylostoma* spp., *Toxocara* spp. e *Dypilidium caninum*, além dos oocistos de protozoários *Cystoisospora canis*;

O mini-FLOTAC apresentou um maior potencial na recuperação de ovos e oocistos;

Dentre as concordâncias analisadas entre as técnicas testadas, a que obteve maior similaridade foi a de Mini-FLOTAC com Willis-Mollay;

Ao considerar a categoria dos animais, observou-se que nenhuma das técnicas diferiram quanto a capacidade de recuperar ovos e oocistos.

REFERÊNCIAS

- ADOLPH, C. et al. Diagnostic strategies to reveal covert infections with intestinal helminths in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 247, p. 108-112, 2017.
- AHID, S. M. M.; SUASSUNA, A. C. D.; FILGUEIRA, K. D. Fauna Parasitológica em Animais Domésticos e Exóticos no município de Mossoró-RN. **Biociências**, v. 17, p.1, 2009.
- ALVES, O. G. A. S. A. et al. **Ocorrência de enteroparasitos em cães do município de Goiânia, Goiás: comparação de técnicas de diagnóstico**. 2005.
- BALASSIANO, B. C. C. et al. Fatores associados à infecção parasitária gastrointestinal em cães no Rio de Janeiro, Brasil. **Medicina Veterinária Preventiva**, v. 91, n. 2, p. 234, 2009.
- BELTRÃO, B. A. et al. **Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea, estado do Rio Grande do Norte: relatório diagnóstico do município de Mossoró**. CPRM, 2005.
- BOAG, P. R. et al. Characterisation of humoral immune responses in dogs vaccinated with irradiated *Ancylostoma* spp. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 92, p. 87-94, 2003.
- BOWMAN, D. D.; GEORGIS. **Parasitologia Veterinária**. 9 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 430p.
- BRICARELLO, O. et al. Contaminação por parasitas de importância zoonótica em amostras fecais nas praias de Florianópolis, SC, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal**, v. 55, n. 1, p. 1-10, 2018.
- BUEHL, I. E. et al. Canine Isosporosis – Epidemiology of Field and Experimental Infections. **Journal of Veterinary Medicine**. v. 53, p. 482-487, 2006.
- CHAPPELL C, E.J.P.; PEN, H.M. *Dipylidium caninum* , uma infecção sub-reconhecida em lactentes e crianças. **The Pediatric Infectious Disease Journal**. v 9: p.745-7.1990.
- CUNHA, M. J. R. et al. **Ocorrência e identificação molecular de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em aves silvestres brasileiras**. 2013. Disponível em: <<http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/16685/1/d.pdf>> Acesso em: 19 jun. 2018.
- COELHO R.A.L, et al. Prevalence of toxocariasis in Northeastern Brazil based on serology usin recombinant *Toxocara canis* antigen. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 72, p.103-117, 2005.
- COELHO, W. A. C. et al. Larvas de ancilostomatídeos em diferentes ambientes do estado do rio grande do norte. **Revista Caatinga** (Mossoró, Brasil), v. 20, n. 3, p. 207-209, 2007.
- COELHO, W. M. et al. Occurrence of *Ancylostoma* in dogs, cats and public places from Andradina city, São Paulo state, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 53, n. 4, p. 181-184, 2011.

CORRÊA, G.L.B. et al. Contaminação do solo por ovos, larvas de helmintos e oocistos de protozoários, em praças públicas de Santa Maria e sua importância em saúde pública. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.4: p.137-141,1995.

CRINGOLI G et al. FLOTAC: new multivalente techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. **Nature Protocol** v.5, p.503–515,2010.

CRINGOLI, G., et al. Geospatial (s)tools: integration of advanced epidemiological sampling and novel diagnostics. **Geospat Health** , v.7, p.399-404, 2013.

DE AVELAR, D.M. et al. Endossimbiontes de *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae) obtidos de cães capturados em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Journal Invertebrate Pathol**,v.94. p. 149-52, 2007.

DE CARLI, G. A. **Parasitologia clínica: Seleção de métodos e técnicas de laboratório para diagnóstico das parasitoses humanas**. 2 ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2007.

DE CARLI, G. A. **Diagnóstico laboratorial das parasitoses humanas, métodos e técnicas**. Rio de Janeiro: Medsi. 2011.

DESPOMMIER, D. Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology and molecular aspects. **Clinical Microbiology Reviews**, v.16, n. 2, p. 265-272, 2003.

DRYDEN, M.W.et al. Comparison of common fecal flotation techniques for the recovery of parasite eggs and oocysts. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 6.p.15-28, 2005.

ESCCAP- European Scientific Counsel Companion Animal Parasites. Guideline 6: **Control of intestinal protozoa in dogs and cats**. 2 ed., 2018.

FERREIRA, C. G. T., BEZERRA, A. C. D. S., AHID, S. M. M. Endoparasitas em cães (*Canis familiaris* L.) em Apodi, Rio Grande do Norte, Brasil. **PUBVET**, v. 4, n. 20, 125 ed., 2010.

FIGUEIREDO, S.D.P. et al. Estudo clínico-epidemiológico da toxocaríase em população infantil. **Journal of Pediatrics**, v. 81, p. 126-132, 2005.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 4 ed. São Paulo: Ícone, 2004.

FOREYT. **Parasitologia Veterinária – Manual de Referência**. 5.ed. São Paulo: Rocca, 2005, 240p.

FISCHER, C. D. B. Prevalência de helmintos em *Canis familiaris* (Linnaeus, 1758) no Hospital de Clínicas Veterinárias do Rio Grande do Sul através de diagnóstico postmortem. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 31, n. 1, p. 63-64, 2003.

GALVANI, G. D. et al. Eficácia da associação do praziquantel, pamoato de pirantel, febantel e ivermectina no controle de helmintoses em cães do município de Marília São Paulo, Brasil. **Revista Unimar Ciências**, v. 24, p. 1-2, 2017.

GODBER, O. et al. A comparison of the FECPAK and Mini-FLOTAC faecal egg counting techniques. **Veterinary parasitology**, v. 207, n. 3-4, p. 342-345, 2015.

HEILMANN, R. et al. Effect of selected gastrointestinal parasites and viral agents on fecal S100A12 concentrations in puppies as a potential comparative model. **Parasites & Vectors**. v. 11, p. 252, 2018.

HEUKELBA, C.H.J.et al. Prevalência alta de infecções intestinais e ectoparasitas em cães, Minas Gerais (sudeste do Brasil). **Parasitology Research**, v. 111, n. 5, p. 1913-1921, 2012.

HOFFMANN, R. P. **Diagnóstico de parasitismo veterinário**. Sulina, 1987.

HOFFMANN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation concentration method in Schistosomiasis mansoni. **Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 9, n.4, p. 283-298, 1934.

IDIKA, I. K. et al. Prevalence of gastrointestinal helminth infections of dog in Enugu State, South Eastern Nigeria. **Parasite Epidemiology and Control**. v. 2, p. 97–104, 2017.

JESUS, A. P. et al. Efficacy of pyrantel pamoate and ivermectin for the treatment of canine nematodes. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, p. 6, 2015.

JUNIOR, A. L. F. A. et al. Ocorrência de parasitas com potencial zoonótico em fezes de cães coletadas em vias públicas da cidade de Natal. **REVISTA HUMANO SER**, v. 1, n. 1, p. 52-59, 2015.

KATAGIRI, S.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C. Comparison of three concentration methods for the recovery of canine intestinal parasites from stool sample. **Experimental Parasitology**, v.126, p.214-216, 2010

KLIMPEL, S. et al. Gastrointestinais e ectoparasitas de cães de rua em Fortaleza (Brasil): alto risco de infecção para humanos. **Parasitology Research**, v. 107, p. 713-719, 2010.

LEAL, S. M. F. **Prevalência de *Cryptosporidium* spp. e de *Giardia* spp. em cães do Distrito de Bragança, Portugal**. 2015.101p. Dissertação (mestrado integrado em medicina veterinária) - Universidade de Lisboa, Portugal.

LIMA, V.F.S.et al. A comparison of mini-FLOTAC and FLOTAC with classic methods to diagnosing intestinal parasites of dogs from Brazil. **Parasitology research**, v. 114, n. 9, p. 3529-3533, 2015.

MARTINS, L. R. V et al. Contaminação do solo por ovos de *Ancylostoma* sp. e *Toxocara* sp. Em praças públicas no município de Ijuí, RS, Brasil. **Anais do Simpósio Latino-Americano de Estudos de Desenvolvimento Regional**, v. 1, n. 1, 2018.

MATESCO, V.C.et al. Contaminação sazonal por ovos de helmintos na praia de Ipanema, em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Patologia Tropical**., v.35; n 2, p.135-41. 2006

MAURELLI, M.P. et al. Mini-FLOTAC, a new tool for copromicroscopia diagnosis of common intestinal nematodes in dog. **Parasits & Vectores**, v.7, p.2-5, 2014.

MENEZES, R. A. O. et al. Sensibilidade de métodos parasitológicos para o diagnóstico das enteroparasitoses em Macapá – Amapá, Brasil. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**. v.13, n. 2, 2013.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia na Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca, 2011.

OLIVEIRA-ARBEX, A. P. et al. Molecular identification of *Ancylostoma* species from dogs and an assessment of zoonotic risk in low-income households, São Paulo State, Brazil. **Journal of Helminthology**, v. 91, p. 14–19, 2017.

OLIVEIRA, F.; FAGUNDES, E.; BIAZOTTO, G. Ancilostomíase. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 11, 2008.

OLIVEIRA, P.R. et al. Frequência de endoparasitos em cães da região de Uberlândia, Minas Gerais. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v. 27, p. 193-197, 1990.

OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G. et al. Prevalência de parasitas intestinais em cães do Estado de São Paulo, Brasil. **Parasitologia Veterinária**, v. 103, n. 1-2, p. 19-27. 2002.

OLIVEIRA, V. S. F. et al. Ocorrências de helmintos gastrintestinais em cães errantes na cidade de Goiânia – Goiás. **Revista de Patologia Tropical**, v. 38, n. 4, p. 279-283, 2009.

OTERO, D. et al. *Toxocara* spp.: a lombriga de estimação dos carnívoros domésticos e silvestres em Portugal. **Acta Parasitológica Portuguesa**, v. 20, p. 47-50, 2014.

PADHI, T. R. et al. Ocular parasitoses: A comprehensive review. Survey of ophthalmology. **Survey of ophthalmology**, v. 62, n. 2, p.161-189, 2017.

REGINALDO, G. M. S. **Parasitos gastrintestinais em filhotes caninos domiciliados do município de Araçatuba–São Paulo**. 2019.

REY L. **Parasitologia**. 4ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2011. 883p.

SANTARÉM, V.A. et al. Contaminação, por ovos de *Toxocara* sp., de parques e praças públicas de Botucatu, São Paulo, Brasil. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, v.31, p.529-532, 1998

SILVA, A. et al. **Contaminação por parasitas de importância zoonótica em amostras fecais na praia da Pinheira Palhoça-SC, Brasil**. 2018.

SILVA, A. S. et al. Prevalência de parasitismo em cães domiciliados num bairro de Santa Maria, RS. **Revista Saúde**, v. 33, n. 1, p. 27-31, 2007.

SILVA, J. C. S. et al. Endoparasitas em cães e gatos diagnosticados em São Luís- Maranhão. **PUBVET**, v. 11, p. 538-645, 2017.

SILVA, J. E. **Ocorrência de parasitos zoonóticos em amostras fecais de cães em praças públicas do município de Araçatuba, São Paulo, Brasil.** Tese (Doutorado)- Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, 2016.

SILVA, L.M.R. et al. Mini-FLOTAC para o diagnóstico da infecção por *Eimeria* em caprinos: uma alternativa ao McMaster. **Pesquisa sobre pequenos ruminantes**, v. 114, n. 2-3, p. 280-283, 2013.

SILVA, M.K. et al. Parasitas gastrintestinais de cutias (*Dasyprocta leporina*). **Ciência Animal Brasileira**, v.9, p. 128-131,2008.

SOARES, S. et al. Larva Migrans Cutânea: apresentação típica de dois casos clínicos. **Nascer e Crescer**, v. 27, n. 1, p. 46-49, 2018.

TÁPARO, C. V. et al. Comparação entre técnicas coproparasitológicas no diagnóstico de ovos de helmintos e oocistos de protozoários em cães. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 1, p. 1-5, 2006.

VIEIRA, F. P. R. et al. Uso de métodos de flutuação na rotina laboratorial para diagnóstico das principais helmintoses de animais domésticos. **Tópicos especiais em ciência animal**. p. 87, 2016.

WILLIS, H. H. A simple levitation method for the detection of wookworm ova. **Medicine Journal of Australia**, v. 8, p. 375- 376, 1921.