



Relatório Sobre as Atividades Desenvolvidas no Laboratório de Parasitologia da Escola Superior Agrária de Castelo Branco CTePS Análises Químicas e Biológicas

Inês Raquel Cristo Barrocas
20191274

Orientador

Professor Doutor Manuel Vicente de Freitas Martins

Relatório de Estágio apresentado à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à conclusão do Curso Técnico Superior Profissional em Análises Químicas e Biológicas, realizada sob a orientação do Professor Doutor Manuel Vicente de Freitas Martins, do Instituto Politécnico de Castelo Branco.

julho 2021

Agradecimentos

Os meus sinceros agradecimentos:

À Direção da Escola Superior Agrária de Castelo Branco, na pessoa do Professor João Pedro Várzea Rodrigues por permitir a realização do estágio no Laboratório de Parasitologia.

À Engenheira Telma Brida, por me ter acolhido no seu local de trabalho, pela simpatia demonstrada, pelas correções e ensinamentos que me permitiram apresentar um melhor desempenho no meu processo de formação em contexto de trabalho.

Ao Professor Doutor Manuel Martins por me permitir estagiar no laboratório de parasitologia, por aceitar ser meu coordenador interno e pelas dicas úteis que me deu ao longo do tempo.

À minha Coordenadora de Curso Professora Doutora Maria Santos pela oportunidade da realização do meu estágio curricular no Laboratório de Parasitologia, também agradeço pelo acompanhamento e interesse demonstrado.

Ao Senhor Saraiva pela disponibilidade em ajudar nas colheitas das amostras (sangues, fezes, águas, ...) no ovil da ESACB e pela enorme simpatia demonstrada.

À Doutora Filipa Lopes do CERAS (Centro de Estudos e Recuperação de Animais Selvagens) por disponibilizar e permitir a análise das amostras enviadas para o laboratório.

Ao Professor Doutor João Paulo Carneiro pela cedência de amostras dos seus animais de produção e pela preocupação demonstrada.

À Engenheira Isabel Dias por nos facultar amostras dos seus animais de companhia.

Às minhas colegas Mariana, Clabety e Maryline pelo companheirismo e por me terem proporcionado momentos de alegria nas horas vagas.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que fizeram parte desta etapa da minha vida.

Resumo

A formação em contexto de trabalho para a finalização do Curso Técnico Superior Profissional em Análises Químicas e Biológicas decorreu, essencialmente, no Laboratório de Parasitologia, da Escola Superior Agrária de Castelo Branco. Teve início no dia 8 de fevereiro de 2021 e finalizou no dia 2 de julho do mesmo ano.

O estágio teve como objetivo adquirir novos conhecimentos na área da parasitologia, através da realização de metodologias e técnicas laboratoriais de rotina. Neste contexto, salienta-se, a preparação de soluções, esterilização e inativação de material, colheita e conservação de amostras, execução de técnicas de diagnóstico parasitário, técnicas coprológicas, hematológicas, sorológicas e ainda histológicas, e por fim, procedimentos de eliminação de resíduos.

Ao longo dos cinco meses, foram analisadas amostras de várias espécies animais de produção, animais de companhia e animais selvagens. Foram colhidas e analisadas amostras distintas tais como, fezes, sangues, pêlos, citologias cutâneas auriculares e parasitas adultos (Género *Toxocara*) e ainda, amostras de pastagem, das camas dos animais, do solo e uma amostra de água superficial. Foram observados ovos de parasitas (*Nematodirus*, *Strongyloides*, *Trichuris*, *Capillaria*, *Toxocara*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Chabertia*, *Ascaris*, *OEsophagostomum*, *Moniezia*, *Diphylidium*, *Eimeria*), L1 (*Muellerius* e *Protostrongylus*), L3 (*Cooperia*, *Ostertagia*, *OEsophagostomum*, *Trichostrongylus*, *Haemonchus*, *Alfortia*, *Cyathostoma*, *Delafondia*), hemoparasitas, (microfilárias, gametócitos de *Hepatozoon* spp., *Babesia canis*, e ainda nas aves, *Leucocytozoon*) e ácaros (*Psoroptes* e *Damalinia*).

Palavras chave

Parasitologia; ovos; análises; amostras; fezes.

Abstract

The training in the context of work for the completion of the Professional Higher Technical Course in Chemical and Biological Analysis took place, essentially, in the Parasitology Laboratory of the Agrarian Higher School of Castelo Branco. It began on February 8th, 2021 and ended on July 2nd of the same year.

Internship aimed to acquire new knowledge in the area of parasitology, through the realization of routine methodologies and laboratory techniques. In this context, it is notable, the preparation of solutions, sterilization and inactivation of material, collection and conservation of samples, execution of parasitic diagnostic techniques, coprological, hematological, serological and histological techniques, and finally, waste disposal procedures.

Over approximately five months, samples of various species of production, company animals and wild animals were analyzed. Different samples were collected and analyzed, such as feces, blood, hair, auricular skin cytology and adult parasites (genus *Toxocara*), and still, grazing samples, animal beds, soil and a sample of water. Parasite eggs (*Nematodirus*, *Strongyloides*, *Trichuris*, *Capillaria*, *Toxocara*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Chabertia*, *Ascaris*, *OEsophagostomum*, *Moniezia*, *Diphylidium*, *Eimeria*), L1 (*Muellerius* and *Protostrongylus*), L3 (*Cooperia*, *Ostertagia*, *OEsophagostomum*, *Trichostrongylus*, *Haemonchus*, *Alfortia*, *Cyathostoma*, *Delafondia*), hemoparasites (microfilariae, gametocytes of *Hepatozoon* spp., *Babesia canis*, and still, in birds, *Leucocytozoon*), and mites (*Psoroptes* and *Damalina*).

Keywords

Parasitology; eggs; analyses; samples; faeces.

Índice geral

Agradecimentos	III
Resumo	V
Abstract	VII
Índice de Figuras	XI
Lista de Tabelas	XIV
Lista de Abreviaturas, Siglas e Acrónimos	XV
1. Introdução	1
2. Objetivos	1
3. Descrição da Instituição	1
4. Atividades Desenvolvidas	2
4.1 Colheita de Amostras	2
4.1.1 Colheita de fezes	2
4.1.2 Colheita de pastagem e cama dos animais	3
4.1.3 Colheita de pêlo	3
4.1.4 Citologia cutânea e auricular	3
4.1.5 Colheita de água superficial	4
4.1.6 Colheita de sangue	4
4.1.7 Colheita de parasitas adultos	5
4.2 Conservação de Amostras	5
4.3 Preparação de Soluções	6
4.4 Preparação de Material, Esterilização e Inativação	6
4.5 Eliminação de Resíduos	7
4.6 Técnicas de Diagnóstico Parasitário	8
4.6.1 Coprologia	9
4.6.1.1 Observações realizadas ao Microscópio Ótico e à Lupa	14
4.6.1.1.1 Ovos de helmintes	14
4.6.1.1.2 Larvas de 3 estadio evolutivo	14
4.6.1.1.3 Parasitas adultos	16
4.6.1.1.4 Oocistos de protozoários	17
4.6.2 Pastagem, Cama dos Animais, Água e Solo	17

4.6.3 Exame de sangue	19
4.6.4 Sorologia	21
4.6.5 Pêlos/ Cerúmen	22
4.6.6 Parasitas adultos	24
4.6.7 Histologia	25
4.7 Outras Atividades.....	26
5. Considerações Finais	27
6.Referências Bibliográficas	27

Índice de figuras

Figura 1- Colheita de fezes nos ovinos da ESACB.	2
Figura 2- Colheita de fezes a partir do solo, no ovil.	2
Figura 3- Colheita de pastagem da "Casa do Pastor".	3
Figura 4- Colheita das camas dos animais do ovil da ESA.	3
Figura 5- Colheita da amostra de água na barragem da ESACB.	4
Figura 6- Transferência de um litro de amostra para a garrafa.	4
Figura 7- Separação do coágulo e do soro, exemplo de amostra bem colhida.	4
Figura 8- Colheita de amostra de sangue.	5
Figura 9- Realização de pressão no local da punção.	5
Figura 10- Conservação de um parasita adulto em álcool a 70%.	5
Figura 11- Pesagem para a preparação de solução saturada de NaCl.	6
Figura 12- Preparação de pipetas Pasteur para esterilização a calor seco.	6
Figura 13- Preparação de tubos para esterilização a calor húmido.	6
Figura 14- Esterilização em autoclave.	7
Figura 15- Esterilização em estufa.	7
Figura 16- Inativação em autoclave.	7
Figura 17- Eliminação de resíduos, saco branco para material com sangue e saco preto para o lixo comum.	7
Figura 18- Contentor para material cortante/perfurante.	7
Figura 19- Amostra de fezes com proglotes.	9
Figura 20- Amostra de fezes com parasita adulto.	9
Figura 21- Execução de um esfregaço fecal.	9
Figura 22- Material para a execução do esfregaço fecal com coloração de <i>Ziehl-Neelsen</i>	10
Figura 23- Observação ao microscópio ótico de oocisto do género <i>Cryptosporidium</i> , Amp. 1000x.	10
Figura 24- Ovo de <i>Nematodirus</i> spp., Amp. 400x.	10
Figura 25- Ovo de EGI, Amp. 400x.	10
Figura 26- Ovo de <i>Trichuris</i> spp., Amp. 400x.	10
Figura 27- Ovo de Cestode com ganchos do embrião hexacanto visíveis, Amp. 400x.	10

Figura 28- Oocisto de protozoários, Amp. 400x.	10
Figura 29- Observação ao microscópio ótico da câmara de <i>McMaster</i>	10
Figura 30- T. <i>Willis</i> , T. <i>McMaster</i> , T. Sedimentação.	11
Figura 31- Material para a execução das técnicas coprológicas referidas anteriormente.	11
Figura 32- Colheita após 24 horas da T. <i>Baermann</i>	11
Figura 33- <i>Muellerius</i> spp., Amp. 400x.	11
Figura 34- <i>Protostrongylus</i> spp. corado com lugol, Amp.400x.	11
Figura 35- Coprocultura.	12
Figura 36- <i>OEsophagostomum</i> spp., Amp. 100x.	12
Figura 37- <i>Cyathostoma</i> dos equinos, Amp. 100x.	12
Figura 38- Nemátodo do solo, não parasita. Sinal de amostra conspurcada, Amp. 100x.	12
Figura 39- Resultado da T. <i>Faust</i> mod.	12
Figura 40- Resultado após centrifugação da T. <i>Telemann-Rivas</i>	12
Figura 41- Homogeneização do tubo.	13
Figura 42- Material para a determinação da sedimentação e flutuação.	13
Figura 43- A: <i>Ascaris</i> , B: <i>Capilaria</i> , C: <i>Chabertia</i> , D: <i>OEsophagostomum</i> , E: <i>Ostertagia</i> , F: <i>Strongyloide</i> , G: <i>Fasciola hepatica</i> , H: <i>Dipylidium</i> , I: <i>Toxocara</i> . Amp. 400x.	14
Figura 44- A: <i>Alfortia edentata</i> , B: <i>Delafondia vulgaris</i> , parasitas dos equinos. Amp. 100x.	14
Figura 45- <i>Cooperia</i> spp. A: Extremidade anterior, B: Células intestinais e C: Extremidade posterior. Amp. 400x.	15
Figura 46- <i>Haemonchus</i> spp. A: Extremidade anterior, B: Células intestinais, C: Extremidade posterior. Amp. 400x.	15
Figura 47- <i>OEsophagostomum</i> spp. A: Extremidade anterior, B: Células intestinais, C: Extremidade posterior.	15
Figura 48- <i>Ostertagia</i> spp. A: Extremidade anterior, B: Células intestinais, C: Extremidade posterior com características do género. Amp. 400x.	16
Figura 49- <i>Trichostrongylus</i> spp. A: Extremidade anterior, B: Células intestinais, C: Extremidade posterior.	16
Figura 50- Género <i>Toxocara</i> . A: Asas Cervicais, B: Apêndice terminal. Amp. 40x.	16
Figura 51- Género <i>Toxocara</i> . A: Lábios tripartidos, B: Extremidade caudal, C: Apêndice terminal. Amp. 40x.	17

Figura 52- A: <i>Eimeria</i> , oocisto maduro esporulado com 4 esporozoítos; B: <i>Eimeria</i> , oocisto não esporulado; C: oocistos não esporulados; D: oocistos em divisão. Amp. 400x.	17
Figura 53- Execução da T. <i>Willis</i> para amostras das camas dos animais.	17
Figura 54- Enchimento das duas câmaras de <i>McMaster</i>	18
Figura 55- T. Sedimentação (pastagem).	18
Figura 56- Método de <i>Balinger</i>	18
Figura 57- Material para a execução do método de Rugai mod.	19
Figura 58- Coloração rápida, reagente A- Fixador; reagente B- Solução de Eosina (cora o citoplasma); reagente C- Solução de Thiazina (cora o núcleo).	20
Figura 59- Coloração de <i>Giemsa</i>	20
Figura 60- Enchimento dos tubos capilares com amostra.	20
Figura 61- Microhematócrito após centrifugação - plasma hemolisado	20
Figura 62- Amostra positiva à T. <i>Knott</i> , presença de microfilárias, Amp. 100x.	21
Figura 63- DAT, pesquisa de anticorpos anti- <i>Leishmania</i> spp.	22
Figura 64- DAT, titulação de anticorpos anti- <i>Leishmania</i> spp.	22
Figura 65- <i>Malassezia</i> uma levedura, Amp. 1000x.	22
Figura 66- Resultado positivo e negativo à determinação dos fungos dermatófitos.	23
Figura 67- Distribuição do pelo no meio de cultura.	23
Figura 68- Observação à lupa.	23
Figura 69- Dimorfismo sexual, <i>Psorotes cuniculi</i> fêmea maior que o macho. Amp.100x.	23
Figura 70- <i>Damalinia bovis</i> . Malófago mastigador. Amp. 100x.	24
Figura 71- <i>Psoroptes cuniculi</i> . A: Fêmea adulta com ovo no interior, B: Macho. Preparações definitivas. Amp. 100x.	24
Figura 72- Parasitas adultos do género <i>Toxocara</i>	24
Figura 73- Observação ao microscópio estereoscópico de um parasita adulto do género <i>Toxocara</i>	24

Lista de tabelas

Tabela 1- Descrição cronológica das atividades desenvolvidas no Laboratório de Parasitologia.8

Tabela 2- Quantidade de vezes executadas em cada determinação.26

Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

Amp.	Ampliação;
CB	Cauda da Bainha;
CL	Cauda da Larva;
CV	Cuidados Veterinários;
DAT	Teste de Aglutinação Direta;
DPPT	Determinação da Proteína Plasmática Total;
E.	Esfregaço;
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético;
EGI	Estrongilídeo gastrointestinal;
Esó.	Esófago;
EV	Enfermagem Veterinária;
HD	Hospedeiro Definitivo;
HI	Hospedeiro Intermediário;
LP	Laboratório de Parasitologia;
L1	Larva de 1 estadio;
L2	Larva de 2 estadio;
L3	Larva de 3 estadio;
LE	Larva Enquistada;
MB	Merino Branco;
MBB	Merino da Beira Baixa;
NaCl	Cloreto de sódio;
CH	Churra do Campo;
O.p.g.	Ovos por grama de fezes;
o.p.g.	Oocistos por grama de fezes;
PL	Ponta da Larva;
PA	Porro Anal;
PE	Porro Excretor;
T.	Técnica;
TLP	Técnicas Laboratoriais em Parasitologia;
VH	Valor do Hematócrito;
x	Vezes.