

EXPANSCIENCE®

LABORATOIRES



Sara Patrícia Faria Menino

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Parasitoses Intestinais: Diagnóstico recorrendo à técnica de Reação de Polimerização em Cadeia em tempo real quantitativa (qPCR) e *multiplex qPCR*” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, respetivamente, da Dra. Rita Barroso, da Dra. Sandra Palma e da Professora Doutora Maria do Céu Rodrigues de Sousa e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Imagens da capa:

Acedidas a 30 de agosto de 2017, disponíveis em:

- <https://www.charitywater.org/>
- <http://www.expanscience.pt/>

Sara Patrícia Faria Menino

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Parasitoses Intestinais: Diagnóstico recorrendo à técnica de Reação de Polimerização em Cadeia em tempo real quantitativa (qPCR) e *multiplex* qPCR” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, respetivamente, da Dra. Rita Barroso, da Dra. Sandra Palma e da Professora Doutora Maria do Céu Rodrigues de Sousa e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Sara Patrícia Faria Menino, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2012151920, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Parasitoses Intestinais: Diagnóstico recorrendo à técnica de Reação de Polimerização em Cadeia em tempo real quantitativa (qPCR) e *multiplex* qPCR” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 15 de setembro de 2017.

Sara Patrícia Faria Menino

“Education is the most powerful weapon which you can use to change the world.”

Nelson Mandela

Agradecimentos

À equipa da Farmácia Higiene, agradeço todos os ensinamentos e conselhos prestados ao longo de todo o meu período de estágio. Obrigada por me terem feito sentir sempre integrada na equipa e no espírito da Farmácia Comunitária, em especial à Dra. Rita Barroso por toda a orientação e disponibilidade.

Gostaria, igualmente, de agradecer a toda a equipa dos Laboratórios Expanscience Portugal, nomeadamente aos colegas de escritório, aos delegados, vendedores e formadores. Obrigada pelo acompanhamento e pelo à vontade que senti desde o início. Em especial, agradeço à Dra. Sandra Palma toda a paciência e toda a aprendizagem que desenvolvi ao longo do estágio.

À Professora Doutora Maria do Céu Rodrigues de Sousa, agradeço sinceramente toda a disponibilidade e orientação na elaboração da Monografia.

Aos meus amigos e amigas, obrigada pela compreensão nos momentos de maior ausência e pela força que me transmitiram ao longo destes anos. Sem vocês, nada disto seria possível.

A Coimbra e a tudo o que esta cidade me proporcionou, aos amigos e aos momentos da vida académica coimbrã, um sonho tornado realidade.

E, por fim, quero agradecer às pessoas mais importantes da minha vida, os meus pais, irmã e restante família, por todo o amor e sacrifícios que fizeram por mim.

A todos, muito obrigada!

Índice

Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Abreviaturas e Siglas.....	11
1) Introdução.....	12
2) Análise SWOT.....	13
2.1) Strengths – Forças.....	13
2.1.1) Localização e Fidelização.....	13
2.1.2) Diversidade de funções executadas.....	14
2.1.3) Prescrição por DCI em receita eletrónica desmaterializada.....	17
2.1.4) Integração na equipa técnica.....	17
2.2) Weaknesses – Fraquezas.....	18
2.2.1) Contacto diminuto com nomes comerciais.....	18
2.2.2) Limitações em determinadas áreas.....	18
2.3) Opportunities – Oportunidades.....	18
2.3.1) Administração de injetáveis.....	18
2.3.2) Sifarma 2000®	19
2.3.3) Contacto com entidades externas.....	19
2.3.4) Grupo Holon.....	20
2.3.5) Cartão Saúde.....	20
2.3.6) Formações.....	20
2.4) Threats – Ameaças.....	21
2.4.1) Receitas manuais.....	21
2.4.2) A venda e a não venda de MNSRM sem prescrição médica.....	21
2.4.3) Locais de venda de MNSRM.....	22
3) Casos Clínicos.....	22
3.1) Tratamento da diarreia.....	22
3.2) Tratamento de picadas de inseto.....	23
3.3) Tratamento de conjuntivite alérgica e congestão nasal.....	23
4) Conclusão.....	24
5) Referências Bibliográficas.....	25
6) Anexos.....	27

Parte II – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Abreviaturas e Siglas.....	30
1) Introdução.....	31
2) Análise SWOT.....	32
2.1) Strengths – Forças.....	32
2.1.1) Formação e portfolio de produtos comercializados.....	32
2.1.2) Contacto com diferentes estatutos e autoridades regulamentares.....	33
2.1.3) Contacto com os diferentes parceiros/clientes dos LE.....	34
2.1.4) Qualidade e Vigilância.....	36
2.1.5) <i>Marketing</i>	38
2.1.6) Integração na equipa.....	39
2.2) Weaknesses – Fraquezas.....	39
2.2.1) Sem contacto com área de produção e investigação.....	39
2.2.2) Duração curta.....	39
2.2.3) Limitações de conhecimento em cosmética.....	39
2.3) Opportunities – Oportunidades.....	40
2.3.1) Experiência profissional.....	40
2.3.2) Contacto permanente com a língua francesa e inglesa.....	40
2.3.3) Multidisciplinaridade.....	40
2.3.4) TIC.....	41
2.4) Threats – Ameaças.....	41
2.4.1) Contacto com a língua francesa.....	41
2.4.2) Contacto com um medicamento.....	41
3) Conclusão.....	42
4) Referências Bibliográficas.....	43
5) Anexos.....	45

Parte III – Parasitoses Intestinais: Diagnóstico recorrendo à técnica de Reação de Polimerização em cadeia em tempo real quantitativa (qPCR) e *multiplex* qPCR

Abreviaturas e Siglas.....	48
Resumo.....	49
Abstract.....	50
1) Introdução.....	51
2) Parasitoses Intestinais.....	52
2.1) Fatores de risco associados a parasitoses intestinais.....	54
2.1.1) Condições socioeconómicas.....	55
2.1.2) Condições sanitárias e comportamentos de higiene.....	56
2.2) Impacto na saúde pública a curto e longo prazo.....	57
3) Diagnóstico de Parasitoses Intestinais.....	60
3.1) Técnicas microscópicas.....	60
3.1.1) Exame Direto.....	60
3.1.2) Método de Baermann.....	60
3.1.3) Coprocultura.....	61
3.1.4) Teste Triplo de Fezes (<i>Triple Feces Test</i> – TFT).....	61
3.1.5) Técnica de Concentração com Formalina-Éter (<i>Formalin-Ether Concentration Technique</i> – FECT).....	61
3.1.6) <i>Kato-Katz</i>	62
3.1.7) Técnica de Sedimentação Espontânea em Tubo (<i>Spontaneous Sedimentation in Tube Technique</i> – SSTT).....	62
3.1.8) Desvantagens gerais da utilização de técnicas microscópicas.....	62
3.2) PCR em tempo real quantitativa (qPCR) e <i>multiplex</i> qPCR.....	63
3.2.1) Sensibilidade.....	63
3.2.2) Especificidade.....	64
3.2.3) Impacto na implementação da terapêutica.....	64
3.2.4) Outras vantagens.....	65
3.2.5) Desvantagens.....	65
3.2.6) Aplicação do qPCR e <i>multiplex</i> qPCR.....	67
3.3) Alguns estudos comparativos de diagnóstico de parasitoses intestinais.....	67
4) Conclusão.....	71
5) Referências Bibliográficas.....	72

Índice de Tabelas e Figuras

Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Tabela 1: Análise SWOT referente ao estágio em Farmácia Comunitária (FC).....	13
--	----

Parte II – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Tabela 1: Análise SWOT referente ao estágio nos Laboratórios Expanscience (LE).....	32
--	----

Tabela 2: Laboratórios representados em Portugal pelos LE, respetivos produtos comercializados e correspondentes estatutos.....	33
--	----

Parte III – Parasitoses Intestinais: Diagnóstico recorrendo à técnica de Reação de Polimerização em cadeia em tempo real quantitativa (qPCR) e *multiplex* qPCR

Tabela 1: Principais Protozoários e Helminthas responsáveis por parasitoses intestinais em zonas de elevada endemicidade e a principal via de transmissão do parasita.....	54
---	----

Tabela 2: Condições socioeconómicas predominantes em zonas rurais dos países das regiões endémicas, as quais contribuem para o risco de transmissão de parasitoses intestinais.....	55
--	----

Tabela 3: Condições sanitárias e comportamentos de higiene predominantes em zonas rurais dos países das regiões endémicas, as quais contribuem para o risco de transmissão de parasitoses intestinais.....	56
---	----

Tabela 4: Comparação da sensibilidade e especificidade dos métodos utilizados no diagnóstico de parasitoses intestinais.....	69
---	----

Figura 1: Parasitoses intestinais no contexto das áreas endémicas.....	59
---	----

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Higiene, Torres Novas

Abreviaturas e Siglas

ANF – Associação Nacional de Farmácias

ATC – *Anatomical Therapeutic Chemical Code* (Código Químico Terapêutico Anatómico)

CCF – Centro de Conferência de Faturas

CHMT – Centro Hospitalar Médio Tejo

DCI – Denominação Comum Internacional

FC – Farmácia Comunitária

FH – Farmácia Higiene

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento(s) Não Sujeito(s) a Receita Médica

MSRM – Medicamento(s) Sujeito(s) a Receita Médica

PCHC – Produtos de *Consumer Health Care* (Produtos de Cuidados de Saúde do Consumidor)

SNS – Serviço Nacional de Saúde

SWOT – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats* (Forças, Fraquezas, Oportunidades, Ameaças)

I) Introdução

A farmácia é um estabelecimento público de saúde onde a profissão farmacêutica é mais visível aos olhos da sociedade. O farmacêutico é o especialista do medicamento e os Cuidados Farmacêuticos prestam-se pela assistência à pessoa do doente/utente que recorre à farmácia com determinadas necessidades relacionadas com o medicamento. O farmacêutico, na farmácia comunitária, executa muitas tarefas para além da dispensa de medicamentos: indicação farmacêutica, revisão da terapêutica, educação para a saúde, farmacovigilância, seguimento farmacoterapêutico, promoção do uso racional do medicamento, com o objetivo de melhorar os resultados clínicos obtidos com a utilização de medicamentos, logo uma melhor qualidade de vida para a população.¹

O estágio em farmácia comunitária é componente obrigatória para a formação académica de um farmacêutico, de acordo com a Diretiva 2013/55/UE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 20 de novembro.² Assim, de abril a julho de 2017 integrei a equipa da Farmácia Higiene, localizada no concelho de Torres Novas.

A Farmácia Higiene foi fundada em 1933 e tem consigo um conceito familiar muito próprio. Localizada no centro histórico de Torres Novas, a proximidade com a população constitui um dos pilares para a continuidade da atividade, assim como o excelente serviço farmacêutico prestado à comunidade por uma equipa jovem e dinâmica.

O presente relatório tem como objetivo apresentar uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) do estágio que realizei na Farmácia Higiene, no âmbito da unidade curricular “Estágio Curricular” do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF).

2) Análise SWOT

Tabela I: Análise SWOT referente ao estágio em Farmácia Comunitária (FC).

S (Strengths)	W (Weaknesses)	O (Opportunities)	T (Threats)
<ul style="list-style-type: none">• Localização e Fidelização;• Diversidade de funções executadas;• Prescrição por DCI em receita eletrónica desmaterializada;• Integração na equipa técnica.	<ul style="list-style-type: none">• Contacto diminuto com nomes comerciais;• Limitações em determinadas áreas.	<ul style="list-style-type: none">• Administração de injetáveis;• Sifarma 2000®;• Contacto com entidades externas;• Grupo Holon;• Formações.	<ul style="list-style-type: none">• Receitas manuais;• A venda e a não venda de MSRM sem prescrição médica;• Locais de venda de MNSRM.

2.1) Strengths – Forças

2.1.1) Localização e Fidelização

A Farmácia Higiene (FH), localizada no Largo Coronel António Maria Batista, concelho de Torres Novas, acolhe diariamente inúmeros utentes provenientes da unidade de cuidados de saúde primários de Torres Novas, o centro de saúde, da unidade hospitalar de Torres Novas pertencente ao Centro Hospitalar Médio Tejo (CHMT), assim como de diversos consultórios médicos privados. Por ser uma farmácia localizada no centro histórico e próxima às ruas comerciais e mercantis, a afluência de utentes é grande o que me permitiu entrar em contacto com diversos tipos de utentes, de diferentes faixas etárias e condições socioeconómicas e que apresentam diferentes necessidades, salvaguardando que a maioria dos utentes é idosa e polimedicada.

Apesar da farmácia se encontrar um pouco longe das unidades de saúde, não é motivo para que os utentes não se desloquem até à FH, pois assisti a uma fidelização à farmácia por parte da maioria dos utentes que outrora desconhecia, o que se tornou bastante positivo pois com a continuidade do estágio comecei a conhecer a maioria dos utentes e os diversos casos clínicos apresentados por cada um deles, o que me facilitou na comunicação e na familiarização com os mesmos.

2.1.2) Diversidade de funções executadas

Gestão de stocks → A gestão de *stocks*, para qualquer farmácia, é uma tarefa crucial. As encomendas diárias podem ser feitas diretamente aos armazenistas ou laboratórios. Como a FH se encontra integrada no Grupo Holon, as encomendas são, essencialmente, feitas aos armazenistas do Grupo Holon. Quando a encomenda chega à farmácia, procede-se à conferência da mesma, dando entrada de todos os produtos com verificação do seu prazo de validade e, de seguida, procede-se à sua arrumação nos respetivos lugares. Esta função, que me acompanhou ao longo de todo o estágio, permitiu-me ter contacto com muitos medicamentos e Produtos de Cuidados de Saúde do Consumidor (Produtos de *Consumer Health Care* – PCHC) que desconhecia e que aos poucos foram-se tornando familiares. A própria arrumação de todos os produtos permitiu-me conhecer os seus lugares na farmácia para que, depois, a dispensa dos mesmos ao balcão se efetuasse mais rapidamente.

A gestão de *stocks* obriga, também, ao controlo dos prazos de validade de todos os produtos que dispomos na farmácia. Ao início de cada mês, é gerada informaticamente uma lista com os produtos em que os seus prazos de validade vão expirar nos próximos dois meses. Uma das minhas funções era separar esses produtos dos restantes, com o objetivo de serem os primeiros a serem vendidos para rentabilizar ao máximo o *stock*.

Apesar da FH dispor de um *stock* variado em Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM), Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) e PCHC, em variadas ocasiões, surgiram situações de indisponibilidade imediata do produto para o utente. Não obstante, é possível encomendar para o utente esse mesmo produto por telefone pois, em regra, este aceita de bom grado levantar o seu pedido mais tarde. A equipa da FH sempre depositou confiança em mim para exercer esta função autonomamente.

Preparação de Medicamentos Manipulados → Apesar da tecnologia farmacêutica estar cada vez mais evoluída e ser cada vez mais aplicada a muitas substâncias ativas, a farmácia recebeu, por várias vezes durante o meu período de estágio, pedidos de preparação de medicamentos manipulados, os quais a dosagem ou formulação não existem no mercado e que têm de se adaptar à situação clínica do utente. Os conhecimentos obtidos nas unidades curriculares de Farmácia Galénica e Tecnologia Farmacêutica facilitaram a execução desta tarefa, pelas oportunidades que nos deram em calcular as quantidades a pesar/medir das várias matérias-primas a utilizar na fórmula galénica e em praticar a própria forma de as executar. Tive oportunidade de preparar, por duas vezes, uma solução de glicerina iodada a 2%, neste caso para uso veterinário. Esta solução antisséptica é utilizada para o tratamento da dermatite

pustular contagiosa em gado. Também preparei uma pomada de ácido salicílico a 17% em vaselina, utilizada como queratolítica, para uma utente.³

Dispensa de MSRM, MNSRM e PCHC / Aconselhamento Farmacêutico → O atendimento ao público consiste em muito mais do que a dispensa de medicamentos. O papel do farmacêutico centra-se na pessoa do doente, vai de encontro às suas necessidades, ao esclarecimento das suas dúvidas, à educação acerca da nova medicação e/ou da que já é rotineira, à promoção da adesão à terapêutica e à revisão e acompanhamento da mesma, sempre com o objetivo deste se sentir o mais satisfeito possível e, claro, melhorar os seus resultados clínicos.

Na FH, desde cedo, iniciei o atendimento ao balcão, sempre acompanhada pela equipa que me esclarecia qualquer dúvida e me motivava a saber cada vez mais e a ganhar confiança. Numa primeira fase, o fator insegurança foi visível devido à grande variedade de utentes, casos clínicos e questões colocadas. Mas, com o decorrer do estágio a confiança aumentou, pela formação, ensinamentos e a própria confiança que a equipa da FH depositou em mim.

O atendimento ao público, numa farmácia, exige o emprego de certas regras de comunicação, de postura e atitude. No início, a minha falta de experiência ocasionou falhas, mas o contínuo contacto com o público e os conselhos da equipa da FH fizeram-me melhorar cada vez mais: escutar atentamente o utente; colocar as perguntas certas; responder objetivamente às suas questões, perante uma solicitação ou problema apresentado.

O contacto permanente com os MSRM, MNSRM e PCHC, os esclarecimentos sobre eles prestados pela equipa, tanto na sua correta utilização, posologia, doses, indicação terapêutica, efeitos secundários mais comuns e o seu uso racional permitiram-me obter mais conhecimentos e competências para o aconselhamento prestado por mim, nunca descurando o apoio que senti desde o início até ao fim do estágio por parte dos colegas.

Foi, de facto, o contacto com o público que me ajudou a integrar os ensinamentos teóricos e que, na prática, pela repetição se tornaram mais claros.

Medição de parâmetros bioquímicos e fisiológicos → A FH dispõe nas suas instalações um pequeno gabinete, no qual é possível medir alguns parâmetros bioquímicos e fisiológicos, como a glicémia, o colesterol total, os triglicéridos, a pressão arterial, a frequência cardíaca e o peso. Fez parte das minhas funções, sempre que solicitado pelos utentes, proceder a estas medições. A possibilidade de executar esta tarefa revelou-se de extrema importância pois, além do contacto mais próximo e particular com o utente, permite-nos detetar em primeira

instância um possível problema de saúde ou, ainda, se o utente já é medicado, e consoante os resultados, perceber se a medicação está ou não a ser eficaz, se a utilização do medicamento está ou não a ser a correta e, ainda, explicar ao utente possíveis medidas não farmacológicas que este poderá adotar a fim de melhorar os resultados e clínicos e proporcionar-lhe uma maior qualidade de vida. Este controlo constitui um excelente meio de acompanharmos os problemas de saúde dos utentes e, se necessário, encaminhá-los para o médico.

Conferência e fecho de receituário → O Sistema Nacional de Saúde está dividido em entidades de saúde privadas e o Serviço Nacional de Saúde (SNS) que comparticipam os medicamentos dos utentes que lhes estão associados. Alguns utentes que recebemos na farmácia são associados a essas entidades privadas que lhes comparticipam os medicamentos em maior grau. Os outros utentes estão associados apenas ao SNS.

A conferência e o fecho de receituário, processos efetuados no final de cada mês, constituem tarefas muito importantes: para cada entidade de saúde privada são organizados lotes de 30 receitas, com o respetivo verbete identificativo do lote, os quais são enviados à Associação Nacional de Farmácias (ANF) no início do mês seguinte, para que esta apure os valores devidos correspondentes às comparticipações e, assim, efetue o pagamento à farmácia. O mesmo se processa para o SNS, mas, neste caso, os lotes das receitas são enviados para o Centro de Conferência de Faturas do Serviço Nacional de Saúde (CCF), localizado no concelho da Maia, que apura o valor devido correspondente às comparticipações e efetua o pagamento à farmácia desse valor. A faturação do mês conseguida pela farmácia também é enviada para o CCF.⁴

Execução de montras e estruturação de lineares → Uma das tarefas que desempenhei na farmácia foi a execução de montras e a estruturação de lineares. Esta tarefa revela-se de extrema importância, pois a montra constitui a porta de entrada do utente para a farmácia e a estruturação de lineares confere ao interior da farmácia um espaço organizado, de fácil procura e acesso. A montra deve ser, também, visualmente agradável, deve informar os utentes de campanhas de desconto que a farmácia proporciona para um certo período de tempo, ou apenas expor alguns produtos para publicidade. A farmácia é um espaço de saúde público, mas não nos podemos esquecer que também é um espaço comercial e que a compra de MNSRM e PCHC pode ser estimulada.

Torres Novas recebeu entre os dias 1 a 4 de junho a anual feira medieval. Durante estes dias as ruas do centro histórico adaptam-se à época vivida em outrora. A FH contou

também com uma montra adequada à época, mostrando materiais e peças que as boticas antigamente utilizavam.

2.1.3) Prescrição por DCI em receita eletrónica desmaterializada

De acordo com o Decreto-Lei n.º 11/2012, de 8 de março e a Portaria n.º 137-A/2012, de 11 de maio, as regras de prescrição e dispensa de medicamentos sofreram alterações. A prescrição de medicamentos passou a ser efetuada por Denominação Comum Internacional (DCI) da substância ativa, dosagem, forma farmacêutica, apresentação e posologia. O médico pode prescrever por denominação comercial, e devidamente justificado, nos seguintes casos:

- O medicamento prescrito ainda não tem genérico participado ou só ainda está disponível o original;
- O medicamento prescrito tem margem ou índice terapêutico estreito;
- O utente já desenvolveu uma reação adversa ou intolerância a um medicamento com a mesma substância ativa, mas identificado por outra denominação comercial;
- Assegurar a continuidade de tratamento superior a 28 dias.^{5,6}

De acordo com a mesma lei, os medicamentos devem ser prescritos por via eletrónica, e só em casos devidamente justificados, por via manual.^{5,6}

A maioria das receitas que chegavam à farmácia eram, de facto, por DCI e em formato eletrónico desmaterializado o que me facilitou na resposta às perguntas dos utentes quando estes me abordavam com uma receita, pois no MICF aprendemos sempre o nome dos medicamentos pela DCI. A receita eletrónica desmaterializada é uma mais-valia para todos, não só pela facilidade de consulta dos medicamentos prescritos, como pela não possibilidade de engano na dispensa dos mesmos e até pela automatização da participação pelo SNS, excecionando os subsistemas de saúde privados mencionados atrás que ainda têm de ser alocados à receita.

2.1.4) Integração na equipa técnica

A FH conta com uma pequena equipa de profissionais efetivos onde a boa disposição e o à vontade entre todos é constante. Senti-me integrada na equipa desde o início e com autonomia responsável para executar as minhas tarefas, mas nunca só.

2.2) Weaknesses – Fraquezas

2.2.1) Contacto diminuto com nomes comerciais

O desconhecimento da maioria das denominações comerciais dos medicamentos constituiu uma dificuldade nos primeiros tempos do meu estágio, pois no MICF a aprendizagem dos nomes dos medicamentos cingiu-se exclusivamente pela sua DCI. Quando um utente me solicitava um medicamento através do seu nome comercial, este era-me desconhecido. Com o tempo e com as variadas tarefas que desempenhei, comecei a conhecer os medicamentos pelos seus nomes comerciais e esta dificuldade foi diminuindo ao longo do estágio.

2.2.2) Limitações em determinadas áreas

O MICF é um curso que disponibiliza aos seus estudantes um largo leque de aprendizagem na área da saúde, bastante diversificado e onde, no futuro, o papel do farmacêutico se encaixa em diversas áreas. No entanto, senti desde o início dificuldades em áreas como a dermatologia, cosmética, veterinária, dietética e podologia.

Apesar destas áreas terem sido abordadas ao longo do curso, e sendo os utentes da farmácia maioritariamente idosos, o aconselhamento de produtos dermatológicos e cosméticos foi diminuto. Uma forma de aprendizagem foi a estruturação dos lineares.

Torres Novas situa-se no interior centro do país, onde a existência de gado e animais de estimação é um ponto forte. Apesar de inicialmente os meus conhecimentos em veterinária serem limitados, com a contínua requisição de medicamentos de uso veterinário na farmácia, fui aprendendo mais sobre esta temática e até ganhando cada vez mais interesse.

A dietética e podologia são duas áreas distintas as quais, inicialmente, constituíram um ponto fraco. No entanto, a FH dispõe de serviços de consulta de podologia e nutrição, os quais contactei várias vezes ao longo do estágio e até tive oportunidade de assistir a uma consulta de nutrição. Este contacto desenvolveu as minhas competências em maior grau na área de nutrição e dietética, mas a temática da podologia continua a ser um desafio.

2.3) Opportunities – Oportunidades

2.3.1) Administração de injetáveis

A Portaria n.º 1429/2007, de 2 de novembro define os serviços farmacêuticos que podem ser prestados pelas farmácias de oficina. Na FH, é muito frequente a administração de vacinas e outros injetáveis. Tive a oportunidade de realizar por duas vezes a administração

subcutânea abdominal de uma injeção de solução de enoxaparina sódica 40 mg/0.4 mL (Lovenox[®] 40) a uma utente que tinha sofrido uma trombose venosa profunda (TVP). A enoxaparina sódica é um medicamento que atua a nível do sangue, é anticoagulante e da família das heparinas, muito usado nestas situações de TVP e outras do fórum circulatório. Esta oportunidade mostrou-me a proximidade cada vez maior que o farmacêutico tem com o utente/doente e o seu papel interventivo na saúde cada vez mais importante.^{7,8}

2.3.2) Sifarma 2000[®]

A ferramenta informática que mais utilizei no estágio foi o programa Sifarma 2000[®]. Este programa permite executar a maior parte das tarefas do dia-a-dia de uma farmácia, como a consulta e a gestão de *stocks* (nomeadamente criar e rececionar encomendas, definir limites mínimos e máximos de *stock* para cada produto que geram automaticamente uma encomenda), a geração de listas de produtos em que os prazos de validade estão a terminar, o atendimento ao público, a disponibilização de informação científica sobre determinado medicamento (nomeadamente as indicações terapêuticas, as precauções de utilização, posologia, advertências, interações medicamentosas), a sua classificação ATC e o histórico de vendas. Todas estas funções facilitam em muito o trabalho executado dentro de uma farmácia e agilizam o atendimento ao público.

A venda de medicamentos pode ser feita com ou sem receita, suspensa ou a crédito. Este *software* permite, assim, adaptar a venda e ainda criar fichas de cliente, que permitem um atendimento mais personalizado e onde podemos anotar informação sobre o utente, nomeadamente a sua associação a um dos subsistemas de saúde privados que participam os seus medicamentos, a informação de que o médico procedeu a uma troca de medicamentos para determinada doença e muitas outras.

O contacto e adaptação a este programa foi uma mais-valia para o futuro pois a maioria das farmácias em Portugal está associada à ANF e utiliza o Sifarma 2000[®] nos seus computadores.

2.3.3) Contacto com entidades externas

A farmácia é um espaço público de saúde que aproxima a sociedade no acesso ao medicamento e a outros serviços. Sendo por isso um espaço de venda, a visita de laboratórios torna-se uma constante, pela conquista de maior quota de mercado, pela conquista da melhor montra ou linear dentro da farmácia a fim de chegar a um maior número de utentes. A farmácia tenta, assim, disponibilizar a maior oferta possível de produtos aos utentes, nunca esquecendo

que a compra incide maioritariamente sobre os produtos que estão em constante rotação de *stock* e que o laboratório deve garantir a melhor rentabilidade possível para a farmácia. A dinâmica das “compras” torna-se, assim, interessante já que no futuro esta tarefa será certa e saberei como abordar os delegados de vendas.

As empresas distribuidoras farmacêuticas garantem o acesso da farmácia aos medicamentos e aos PCHC e, por isso, constituem uma presença muito frequente dentro da farmácia. A OCP Portugal, a UDIFAR, a Empifarma e a Alliance Healthcare são as empresas distribuidoras da FH e com as quais tive contacto pois quando me encontrava no *backoffice* procedia a receção das caixas que continham os produtos.

2.3.4) Grupo Holon

A FH tornou-se membro do Grupo Holon no dia 1 de abril de 2017. Apesar de ainda muito recente, tive oportunidade de estagiar numa farmácia pertencente a um grande grupo de farmácias em Portugal. Ainda em fase de adaptação e estudos, foi-me possível assistir em como o Grupo Holon está unido, tanto a nível da qualidade de atendimento, como o acesso a produtos Holon, o usufruto de descontos feitos através dos armazenistas que beneficiam economicamente a farmácia e, assim, um maior acesso a medicamentos e outros produtos por parte dos utentes.

2.3.5) Cartão Saúde

A FH está associada à ANF e, por isso, possibilita aos utentes o usufruto do Cartão Saúde. Este cartão permite a acumulação de pontos consoante as compras que o utente efetuar em qualquer farmácia associada à ANF. Por cada euro gasto na compra de MNSRM ou PCHC, o cartão acumula 1 ponto. Atingindo os 50 pontos, o utente pode usufruir de um desconto de 2 euros em qualquer compra numa farmácia associada à ANF ou, se preferir, continuar a acumular pontos até que sejam suficientes para levar gratuitamente um dos produtos que a Revista Saúde designar.

2.3.6) Formações

Tive oportunidade de assistir a uma formação *online* intitulada “Indicação Farmacêutica na Diarreia Aguda” empreendida pelos laboratórios Merck. Para além de assistir a esta apresentação, foi-me, igualmente, solicitada a apresentação de dois trabalhos acerca da Diabetes *Mellitus* Tipo I e Insulinoterapia e o Parasitismo e a terapêutica associada.

A formação é o pilar para qualquer carreira na área da saúde e as ciências farmacêuticas não podem ficar para trás.

2.4) Threats – Ameaças

2.4.1) Receitas manuais

As receitas manuais constituíram ao longo do meu estágio uma dificuldade. De acordo com a Portaria nº 137-A/2012, de 11 de maio, as receitas manuais podem ser prescritas nos casos de:

- Falência do sistema informático;
- Inadaptação fundamentada do prescriptor;
- Prescrição ao domicílio;
- Outras situações, até um máximo de 40 receitas por mês.⁶

As receitas manuais, não estando inseridas num sistema informático, são propícias a erros, não só pela dificuldade de leitura como de interpretação e validação da receita. quantidade de receitas manuais que me foi apresentada e acabei por não consolidar toda a aprendizagem.

2.4.2) A venda e a não venda de MSRM sem prescrição médica

Estando a farmácia localizada num meio pequeno, a familiarização com os utentes é evidente. Muitos utentes dirigem-se à farmácia com a intenção de obter um MSRM sem prescrição médica, alegando que o mesmo não é participado, ou mesmo sendo, o valor pago pela consulta não compensa a participação. Ora, se o utente for conhecido pela equipa e se o medicamento for habitual (o Sifarma 2000[®] grava o histórico de vendas e este é possível ser consultado, tendo as vendas anteriores sido feitas com fatura com número de contribuinte) a venda pontual poderá realizar-se e pôr-se a questão de uma venda suspensa. No entanto, se se tratar de um utente desconhecido para a farmácia, a não venda desse medicamento é certa, aconselhando o utente a dirigir-se ao médico.

Esta questão é passível de um descontentamento por parte do utente, mas a salvaguarda do farmacêutico é garantida.

2.4.3) Locais de venda de MNSRM

Com a publicação do Decreto-Lei n.º 134/2005, de 6 de agosto, foi possível MNSRM passarem a ser vendidos fora das farmácias em locais que cumpram os requisitos legais e regulamentares.⁹

Por várias vezes, utentes dirigiram-se à farmácia para esclarecer uma dúvida sobre determinado medicamento de venda livre ou solicitavam algum para lhes resolver determinado problema que apresentavam. O papel do farmacêutico é, precisamente, esclarecer essas dúvidas e resolver, se possível, o problema do utente. Finalmente esclarecido, acabava apenas por agradecer pelas informações prestadas e saía em busca deste tipo de estabelecimentos com a ideia de, à partida, o medicamento ser mais barato nestes locais. O acesso a este tipo de locais é muito mais facilitado, pelo grande número de lojas existentes e o facto de se localizarem em grandes superfícies comerciais. A FH, pela sua localização, tem vários estabelecimentos deste tipo nas redondezas que constituem concorrência direta.

Por outro lado, muitos utentes já nem se dirige à farmácia para tentar resolver o seu problema de saúde, acabando apenas por se deslocar até estes estabelecimentos, solicitando algum medicamento que acha que lhe resolve o problema, mas sem o aconselhamento farmacêutico devido.

Esta lei, por um lado, veio retirar às farmácias uma parte da sua sustentabilidade e, por outro, veio descredibilizar o papel que o farmacêutico tem junto da sociedade.

3) Casos Clínicos

3.1) Tratamento da diarreia

A. M. de 53 anos dirige-se à farmácia solicitando algum medicamento que lhe pare a diarreia, uma vez que tem de ir trabalhar. Depois de algumas perguntas, responde-me que está nesta situação desde o dia anterior e que naquele dia já tinha realizado 4 dejeções, sentindo-se prostrado. Refere também que não tem febre.

Indiquei ao utente Imodium Rapid® para parar a diarreia. Este medicamento tem como substância ativa o cloridrato de loperamida numa dosagem de 2 mg em que os comprimidos são orodispersíveis. Expliquei que começa por tomar 2 comprimidos e que após cada dejeção realiza a toma de 1, até um máximo de 8 comprimidos por dia. Os comprimidos devem colocar-se na língua.¹⁰

Para a reposição da flora intestinal, recomendei ao utente a toma de 1 cápsula, 3 vezes

ao dia, de UL-250[®]. Este medicamento é constituído por 250 mg de células liofilizadas de *Saccharomyces boulardii*.¹¹

Como o utente se sente prostrado, aconselhei a toma de uma solução de reidratação oral, o Dioralyte[®] em pó para solução oral. Expliquei que deve dissolver o conteúdo de 5 saquetas em 1 L de água e ir bebendo ao longo do dia. Dioralyte[®] é constituído por glicose e eletrólitos, como o cloreto de sódio, cloreto de potássio e citrato dissódico.¹²

3.2) Tratamento de picadas de inseto

B. R. de 24 anos diz que foi picada por um inseto e apresenta algumas manchas vermelhas na pele dos braços e tronco, sentindo bastante prurido. Refere que já colocou Fenistil[®] em gel, mas que não resulta.

Indiquei a aplicação do creme Pandermil[®]. Este creme tem como substância ativa a hidrocortisona numa concentração de 10 mg/g. Expliquei à utente que deve aplicar o creme 2 a 3 vezes por dia apenas nas zonas vermelhas e em quantidades muito pequenas, no máximo até 7 dias. Se não existirem melhoras, deve consultar um médico.¹³

Sugeri também a aplicação de um repelente de insetos, o Tabard[®] em aerossol. Este produto tem como substância ativa a N, N-dietil-m-toluamida (DEET) numa concentração de 19,9%. Deve ser aplicado de 3 em 3 horas nas zonas descobertas do corpo. Para o rosto, deve-se aplicar na palma da mão para depois espalhar na cara, evitando os olhos e a boca.¹⁴

3.3) Tratamento de conjuntivite alérgica e congestão nasal

T. R. de 60 anos dirige-se à farmácia queixando-se dos olhos se encontrarem bastante lacrimejantes e visivelmente vermelhos. Refere que tem muita comichão (prurido) e que esta situação é habitual nesta altura do ano. Também sente o nariz entupido. Depois de algumas perguntas, refere que não tem remela e que ainda não efetuou qualquer tratamento.

Trata-se de uma alergia sazonal, típica da primavera, na qual existem sintomas de conjuntivite e congestão nasal. Indiquei o Opticrom[®] colírio, solução em unidose. Este medicamento tem como substância ativa o cromoglicato de sódio, descongestionante, numa concentração de 20 mg/mL. Expliquei à utente que poderia colocar uma a duas gotas em cada olho, quatro vezes ao dia e que devia continuar com este tratamento mesmo após os sintomas melhorarem, para prevenir uma agudização do problema. O tratamento é recomendado durante o período de exposição ao alérgeno.¹⁵

Para alívio da congestão nasal, recomendei 4 aplicações diárias de Rhinomer[®], água do mar isotónica esterilizada.

4) Conclusão

O estágio que realizei em FC foi o aplicar de grande parte dos conhecimentos teóricos que obtive durante o MICF. Neste estágio pude conhecer as diferentes tarefas que um farmacêutico desempenha em farmácia comunitária, bem como o papel interventivo do farmacêutico na saúde da população, constituindo a farmácia o primeiro local de entrada do utente no SNS.

Considero o balanço deste estágio positivo, pois sinto que evoluí a nível profissional e pessoal, integrando os conhecimentos teóricos já obtidos e adquirindo muitos e novos conhecimentos que me deram mais competências e responsabilidade na execução das minhas tarefas, apesar de forma, ainda, não totalmente autónoma. O estágio teve um tempo limitado, mas sinto que adquiri as bases necessárias para ingressar no mercado de trabalho.

Foi, de facto, o contacto com o público que me fez aprender. Os casos clínicos reais, as diferentes necessidades de cada utente e a personalidade de cada um puseram-me à prova. A aprendizagem foi constante, tanto a nível científico como a nível pessoal, percebendo desde início quais as áreas em que me sentia mais confortável, outras onde menos dominava. Reconheço que tenho muito a aprender, pois ainda não estou preparada para executar todas as funções de um farmacêutico em FC autonomamente. É certo que a experiência profissional irá preencher estas “lacunas”, melhorando o meu desempenho e autonomia, pois quero também contribuir para a dignificação da profissão farmacêutica.

5) Referências Bibliográficas

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária (BPF)**. 3.^a edição. Conselho Nacional da Qualidade, 2009.
2. JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA - **Diretiva 2013/55/UE do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de novembro de 2013**. (2013) [Acedido a 3 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: http://www.acss.min-saude.pt/wp-content/uploads/2017/05/Diretiva_2013_55_EU.pdf.
3. ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE FARMÁCIAS - ANF, CENTRO TECNOLÓGICO DO MEDICAMENTO – CETMED - **Formulário Galénico Português**. Lisboa: ANF.CETMED, 2001.
4. ADMINISTRAÇÃO CENTRAL DO SISTEMA DE SAÚDE, IP - **Manual de Relacionamento das Farmácias com o Centro de Conferência de Facturas do SNS**. (2017) [Acedido a 16 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <https://www.ccf.min-saude.pt/portal/page/portal/estrutura/documentacaoPublica/ACSS/Manual%20de%20Relacionamento%20de%20Farm%C3%A1cias%20v1%2023.pdf>.
5. INFARMED – GABINETE JURÍDICO E CONTENCIOSO - **Decreto-Lei n.º 11/2012, de 8 de março**. (2012) [Acedido a 3 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: https://www.aprefar.pt/pdf/035-G_Lei_11_2012_Infarmed.pdf.
6. DIÁRIO DA REPÚBLICA – MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Portaria n.º 137-A/2012, de 11 de maio**. (2012) [Acedido a 3 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: https://www.ers.pt/uploads/document/file/408/Portaria_n._137-A_2012_de_2012-05-11_Estabelece_o_regime_jur_dico_modelos_de_receita_m_dica_condi_es_de_dispen_sa_de_medicamentos_obriga_es_de_informa_o_a_prestar_aos_utentes...._pdf.
7. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento - Lovenox solução injetável**. (2017) [Acedido a 4 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=5225&tipo_doc=rcm.

8. INFARMED – GABINETE JURÍDICO E CONTENCIOSO - **Portaria n.º 1429/2007, de 2 de novembro.** (2007) [Acedido a 4 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: http://www.infarmed.pt/documents/15786/1067254/023-A3_Port_1429_2007.pdf.

9. DIÁRIO DA REPÚBLICA – MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Decreto-Lei n.º 134/2005, de 16 de agosto.** (2005) [Acedido a 4 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <https://dre.pt/application/dir/pdfs/2005/08/156A00/47634765.pdf>.

10. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento - Imodium Rapid 2 mg comprimido orodispersível.** (2016) [Acedido a 7 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=4444&tipo_doc=rcm.

11. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento - UL-250, 250 mg, cápsulas.** (2014) [Acedido a 7 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=8813&tipo_doc=rcm.

12. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento - Dioralyte, pó para solução oral.** (2004) [Acedido a 7 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=2677&tipo_doc=rcm.

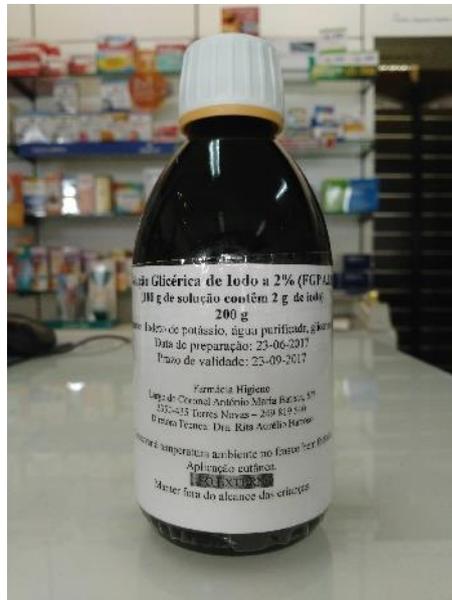
13. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento - Pandermil 10 mg/g Creme.** (2015) [Acedido a 7 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=6619&tipo_doc=rcm.

14. HENKEL - **Tabard Repelente.** [Acedido a 7 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <http://www.dumdum.com/pt/pagina-principal/produtos-e-solucoes/tabard.html>.

15. INFARMED - **Resumo das Características do Medicamento – Opticrom 20mg/ml Colírio, Solução em Unidose.** (2014) [Acedido a 7 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=579400&tipo_doc=rcm.

6) Anexos

I. Medicamento Manipulado para Uso Veterinário - Solução de Glicerina Iodada a 2%.



II. Medicamento Manipulado - Pomada de Ácido Salicílico a 17% em vaselina.



III. Adaptação da farmácia à contextualização histórica medieval.



IV. Divulgação de campanhas de desconto existentes/publicidade.



Parte II

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Laboratórios Expanscience

Abreviaturas e Siglas

AIM – Autorização de Introdução no Mercado

ANF – Associação Nacional de Farmácias

AR – Assuntos Regulamentares

BPF – Boas Práticas de Fabrico

CDP's – Créditos de Desenvolvimento Pessoal

CNP – Código Nacional do Produto

DGAV – Direção Geral de Alimentação e Veterinária

DGS – Direção Geral de Saúde

DIM – Delegado(s) de Informação Médica

DM – Dispositivo(s) Médico

EAN – *European Article Number* (Número de Artigo Europeu)

EMA – Agência Europeia do Medicamento

FC – Farmácia Comunitária

FI – Folheto Informativo

INCI – *International Nomenclature of Cosmetic Ingredient* (Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos)

INFARMED – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.

LE – Laboratórios Expanscience

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento(s) Não Sujeito(s) a Receita Médica

MUH – Medicamento(s) de Uso Humano

OF – Ordem dos Farmacêuticos

PC – Produto(s) Cosméticos

PCHC – Produtos de *Consumer Health Care* (Produtos de Cuidados de Saúde do Consumidor)

RCM – Resumo das Características do Medicamento

SWOT – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats* (Forças, Fraquezas, Oportunidades, Ameaças)

TIC – Tecnologias de Informação e Comunicação

UEBT – União para o BioComércio Ético

I) Introdução

Os Laboratórios Expanscience (LE) são uma empresa francesa, criada em 1950, de raiz familiar e independente. O conceito desta empresa baseia-se, essencialmente, em dois pilares: a preservação do capital celular da pele desde o nascimento e a preservação do capital de mobilidade dos doentes que sofrem de problemas do fórum reumatológico.¹ Este último ponto não foi abordado no meu estágio, já que os LE não comercializam tais produtos no mercado português.

As áreas de aplicação dos LE são, assim, a cosmetologia e a reumatologia, onde lideram no mercado os produtos cosméticos destinados ao bebé e à grávida/recém-mãe (Mustela[®] Bebé e Mustela[®] Maternidade).¹ Os produtos Mustela[®] são constituídos por 98% de ingredientes de origem vegetal, como a perseóse de abacate (molécula extraída do fruto abacate, purificada e concentrada), patenteada pelos LE, que preserva o capital celular da pele do bebé e reforça a barreira cutânea. Este ativo natural é biomimético, o que se traduz numa grande afinidade para a pele do bebé, logo é eficaz e tolerável.²

A filial portuguesa foi fundada em 1977 e comercializa produtos Mustela[®] e Noviderm[®]. Para além destes, também representa e distribui outras marcas que são fabricadas por outros laboratórios: Laboratórios Gilbert, Laboratórios Aseptia e Laboratórios PRIM. Esta empresa caracteriza-se pela sua responsabilidade social, já que em 2004 assinou o Pacto Mundial das Nações Unidas, que protege os clientes e o meio ambiente e é membro da UEBT (União para o BioComércio Ético) que preserva a biodiversidade e respeita as regras do comércio ético.³

Este relatório tem como objetivo apresentar uma análise SWOT do estágio que realizei na filial portuguesa dos LE, localizada em Lisboa, no âmbito da unidade curricular “Estágio Curricular” do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF).

2) Análise SWOT

Tabela 1: Análise SWOT referente ao estágio nos Laboratórios Expanscience (LE).

S (Strengths)	W (Weaknesses)	O (Opportunities)	T (Threats)
<ul style="list-style-type: none">• Formação e portfolio de produtos comercializados;• Contacto com diferentes estatutos e autoridades regulamentares;• Contacto com os diferentes parceiros/clientes dos LE;• Qualidade e Vigilância;• <i>Marketing</i>;• Integração na equipa.	<ul style="list-style-type: none">• Sem contacto com área de produção e investigação;• Duração curta;• Limitações de conhecimento em cosmética.	<ul style="list-style-type: none">• Experiência Profissional;• Contacto permanente com a língua francesa e inglesa;• Multidisciplinaridade;• TIC.	<ul style="list-style-type: none">• Contacto com a língua francesa;• Contacto com um medicamento.

2.1) Strengths – Forças

2.1.1) Formação e portfolio de produtos comercializados

A formação sobre a pele do bebé, os diferentes tipos de pele (pele normal, pele seca e pele atópica) e as suas principais características e manifestações consistiram um ponto positivo para o meu estágio. Os produtos Mustela® estão separados por gamas a que corresponde cada tipo de pele e cada tipo de cuidado (Higiene, Banho, Hidratação e Muda da Fralda). A Mustela® disponibiliza, ainda, uma gama de produtos indicada para grávidas e recém-mães (Hidratação, Prevenção e Correção de Estrias, Pernas Ligeiras, Firmeza Corporal e de Busto). Após o contacto contínuo com estes produtos ao longo de todo o estágio, adquiri competências técnicas e científicas para o correto aconselhamento dos produtos para bebés desde o seu nascimento, grávidas e mães, além de que, ainda, obtive conhecimentos sobre os ingredientes mais usados nas fórmulas da Mustela® e a sua função na pele.

Para além da Mustela®, os LE em Portugal representam outros laboratórios (Laboratórios Gilbert, Laboratórios Asepta e Laboratórios PRIM).

2.1.2) Contacto com diferentes estatutos e autoridades regulamentares

Medicamentos de Uso Humano (MUH), Dispositivos Médicos (DM), Produtos Cosméticos (PC), Suplementos Alimentares e Biocidas constituíram os estatutos de produtos com os quais contactei ao longo de todo o estágio e que me permitiram aproximar mais das diferentes autoridades regulamentares, como a Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. (INFARMED), a Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) e a Direção Geral de Saúde (DGS).

Tabela 2: Laboratórios representados em Portugal pelos LE, respetivos produtos comercializados e correspondentes estatutos.

Estatuto	Marca/Gama
Laboratórios Expanscience	
Produtos Cosméticos	Mustela®
	Noviderm®
Laboratórios Gilbert, Grupo Bateau	
Medicamentos de Uso Humano	Parasidose® 2 mg/g Champô
Produtos Cosméticos	Óleo de Amêndoas Doces®
	Moustidose® Loção Calmante
	Le Comptoir du Bain®
Dispositivos Médicos	A-Cerumen®
	Parasidose® Cuidado Tratamento
	Physiodose® / Marimer®
	Dologel®
	Moustidose® Compressas Calmantes
Suplementos Alimentares	Physiolac®
Biocidas	Moustidose® Leite Repelente
Laboratórios Aseptia	
Produtos Cosméticos	Akileine®
	Akildia®
	Cicaleine®
	Ecrinal®
Laboratórios PRIM	
Dispositivos Médicos	Comforsil®

Quanto aos DM, os certificados de conformidade emitidos pelo fabricante e pelo Organismo Notificado e a notificação de registo no INFARMED são documentos que devem ser enviados aos Armazenistas que distribuem todos os DM comercializados pelos LE em Portugal, conforme o estipulado pelo Decreto-Lei nº 145/2009, de 17 de junho.⁴

No seguimento de uma auditoria realizada à operadora logística dos LE (Dilofar), no âmbito do manual da qualidade para obtenção do certificado de distribuição, em dezembro de 2016, foi elaborado o relatório da auditoria, o qual contempla os pontos a melhorar e o mesmo foi entregue ao INFARMED.

2.1.3) Contacto com os diferentes parceiros/clientes dos LE

Acompanhei Delegados de Informação Médica (DIM), formadores, *merchandisers* e vendedores aos locais onde se vendem produtos comercializados pelos LE:

- Operadora Logística – Dilofar;
- Farmácias;
- Locais de venda de MNSRM;
- Centros de Saúde e Maternidades.

Equipa de DIM → Os Laboratórios Expanscience são representados nas maternidades e centros de saúde de todo o país por DIM através de protocolos de parceria estabelecidos entre a instituição de saúde e a empresa farmacêutica. O objetivo é promover os produtos da marca Mustela® junto dos profissionais de saúde, enfermeiros e médicos, e de consumidores. Para além do importante contacto com os principais alvos de clientes, os DIM oferecem formação sobre os produtos que comercializam, incluindo a sua correta utilização, disponibilizam produtos e amostras para experimentação, folhetos formativos, cartazes para exposição e outros materiais similares a fim de cumprir com o estabelecido no protocolo e promover os seus produtos. Os protocolos de parceria são assinados entre os LE e a enfermeira do serviço de Obstetrícia, Maternidade, Neonatologia ou Pediatria. Os Dermatologistas especialistas em Pediatria são a principal classe de médicos a que se destinam os produtos Mustela®. Os Planos de Visita Médica são agendados no início de cada ano civil e têm como objetivo atribuir a cada um dos delegados as instituições de saúde que frequentarão durante o correspondente ano, que materiais levarão a cada visita, que grupos de profissionais de saúde visitarão. A possibilidade de estar presente em reuniões com os DIM e em sessões formativas junto de profissionais de saúde, nomeadamente enfermeiros (Hospital da Luz Arrábida), e grávidas (Hospital do Barreiro) ajudou-me a entender o procedimento do mesmo

e os objetivos a alcançar, bem como assimilar toda a dinâmica envolvida entre o profissional de saúde e a empresa farmacêutica.

Para apoiar a equipa de DIM, nomeadamente na organização das visitas médicas, elaborei *check-lists* para formações de enfermeiros, médicos e consumidores que têm como objetivo serem consultadas pelo delegado antes de iniciar a respetiva visita bem como intervêm nas apresentações em *PowerPoint*, que devem ser adequadas ao formando, melhorando a informação prestada sobre os cuidados neonatais.

Os LE, na sequência de protocolos estabelecidos com instituições de saúde, participam em eventos realizados por essas instituições. Pude presenciar a atribuição de patrocínio para as II Jornadas de Pediatria do Hospital CUF Porto.

Procedi ao registo no INFARMED de um DIM, recentemente contratado pelos LE.⁵

Equipa de formadores, *merchandisers* e vendedores → Os LE são representados em farmácias e em locais de venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) por formadores, *merchandisers* e vendedores. A possibilidade de acompanhá-los “no terreno”, nomeadamente em farmácias da zona metropolitana de Lisboa e distrito de Santarém, permitiu-me perceber os objetivos de venda dos LE e os próprios objetivos de venda destes estabelecimentos. Além da venda, o formador/*merchandiser* disponibiliza formação aos profissionais de farmácias e de locais de venda de MNSRM. Apoiei estas sessões formativas, mediante a elaboração de questionários de satisfação e formação e elaboração de certificados, bem como preparei relatórios pós-formação, os quais são enviados ao Diretor Técnico das farmácias e locais de venda de MNSRM, com o objetivo de o informar acerca do nível de conhecimentos que os seus profissionais apresentam para o correto aconselhamento dos produtos bem como o seu grau de satisfação relativamente à formação realizada. Também organizei material a enviar aos *merchandisers* e formadores.

Em termos de *merchandising*, o colaborador organiza e estrutura o linear, o topo ou gôndola na farmácia e propõe a colocação de expositores e outros materiais promocionais criados pelo departamento *Marketing* a fim de dinamizar o máximo possível as marcas comercializadas pelos LE. Colaborei na realização destas tarefas, aquando das minhas saídas para o “terreno”.

Realização de Sessões Formativas para Farmacêuticos → A organização do evento “*Training Bebê & Criança*”, formações Mustela® que decorreram nas cidades do Porto e Lisboa nos dias 16 e 21 de fevereiro, respetivamente, envolveu o convite de farmácias de cada uma

das zonas do país para participarem na formação. Submeti a formação no *site* da Ordem dos Farmacêuticos (OF) para creditação, a qual atribuiu 0.225 Créditos de Desenvolvimento Pessoal (CDP's). As formações decorreram em hotéis nas cidades supracitadas onde se procedeu à organização da sala, à decoração da mesma e à organização das ofertas para os participantes. Colaborei na organização e logística destes eventos, nomeadamente:

- Elaboração de uma *check-list*;
- Confirmação dos elementos das farmácias inscritos;
- Organização e decoração da sala;
- Garantia de que o evento decorre com normalidade;
- Creditação no *site* da OF.

No final contabilizou-se a presença de 194 pessoas na formação do Porto e 180 pessoas na formação de Lisboa. As formações contaram com o apoio dos DIM, *merchandisers*, formadores e vendedores de cada zona do país. Tudo isto permitiu-me ter perceção do que implica organizar uma formação desta natureza e que o espírito de equipa é crucial para o êxito. Adicionalmente, aprofundei os meus conhecimentos na área dos cuidados em recém-nascidos e crianças e acerca dos produtos Mustela®.

Conferência de imprensa → Para além de sessões formativas organizadas para profissionais de saúde e consumidores, consideram-se também relevantes para efeitos de promoção da marca Mustela®, os *blogs online* e a imprensa e, por isso, no dia 26 de janeiro foi realizada uma conferência de imprensa num hotel em Lisboa, na qual apoiei a equipa de *Marketing* e Formação na organização da sala, decoração e ofertas para os participantes.

2.1.4) Qualidade e Vigilância

Tradução e Validação da Rotulagem → Todos os produtos são fabricados fora de Portugal. Para se concretizar um produto novo ou submetido a alterações, os LE em Portugal têm de formular o seu próprio rótulo para a embalagem primária, embalagem secundária, rótulo e folheto informativo (FI) (se aplicáveis). Para isso há que traduzir os textos para português e colocar os textos legais obrigatórios, símbolos e moradas. O fabricante aprova, fabrica o produto e envia para Portugal, onde se procede à libertação do mesmo. De seguida, preenche-se um formulário em formato de *check-list* ao qual deve ser anexado a fotografia do produto final. Qualquer produto comercializado pelos LE em Portugal está registado no sistema, num ficheiro em *Excel* com os seguintes parâmetros preenchidos: Código Nacional do Produto (CNP), estado de comercialização, nome do produto, Número de Artigo Europeu

(*European Article Number - EAN*), Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos (*International Nomenclature of Cosmetic Ingredient - INCI*), data de validação da rotulagem, estatuto e fotografia do produto. A operadora logística (Dilofar) é informada pelo Diretor Técnico que poderá proceder à distribuição dos produtos que estavam em quarentena.

De acordo com o Regulamento (CE) n.º 1223/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho, relativo aos produtos cosméticos, estes só podem ser disponibilizados no mercado se o seu recipiente e a sua embalagem disponibilizarem, entre outras informações, a data de durabilidade mínima. No entanto, esta informação não é obrigatória caso este período exceda os 30 meses. Os produtos fabricados pelos Laboratórios Gilbert são um exemplo deste caso, pelo que muitas farmácias solicitavam, via *e-mail*, esta informação a qual era correspondida.⁶

Verificação e Validação de Materiais Promocionais → Para todo o tipo de produtos comercializados pelos LE, produzem-se materiais promocionais dos mesmos, como por exemplo uma cinta envolta de dois ou mais produtos, bolsas que agrupam produtos para um tipo de cuidado, folhetos para consumidores ou para profissionais de saúde, dispositivos que se alocaem em lineares, gôndolas e balcões de farmácias, etc. Sempre que há um novo Material Promocional, procede-se à criação de um código interno o qual tem de estar presente no Material Promocional. Depois da aprovação do Material Promocional, o mesmo é fabricado e enviado um exemplar para a empresa a fim de que a Gestora de Produto aprove o mesmo e os outros, que estavam em quarentena na Dilofar, saiam para o mercado. De seguida, preenche-se um formulário em formato de *check-list* ao qual deve ser anexado a fotografia do Material Promocional final aprovado. Qualquer Material Promocional está registado no sistema num ficheiro em *Excel* com os seguintes parâmetros preenchidos: Código Interno, marca associada, nome, data de validação, data prevista de implementação e fotografia.

Verificação da Conformidade do Produto → A contínua produção para posterior comercialização pode originar, com o passar do tempo, erros e, por isso, há que avaliar os produtos relativamente à embalagem e rotulagem: em cada série de produtos, fabricados em França e que chegam à Dilofar em Portugal ou aí manipulados, é retirado um exemplar para avaliação que chegará aos LE. Este procedimento segue os princípios estipulados nas Boas Práticas de Fabrico (BPF). A avaliação desse produto retirado aleatoriamente é feita mediante o preenchimento e atualização de um ficheiro *Excel* onde se registam e confirmam os seguintes parâmetros: CNP, EAN, marca do produto, nome do produto, capacidade, número do lote e prazo de validade (data de durabilidade mínima).

Farmacovigilância → Os LE comercializam um único MNSRM, o Parasidose® 2 mg/g Champô. Após a tomada de conhecimento de um caso de reação adversa relacionado com o mesmo, os LE entram em contacto com o consumidor e preenche-se um formulário. Este formulário é enviado ao titular de Autorização de Introdução no Mercado (AIM) em conjunto com o produto em causa. Proceder-se ao controlo de qualidade do produto e, no fim, o titular de AIM envia uma resposta. O titular, depois, terá de preencher um formulário CIOMS para notificação da Agência Europeia do Medicamento (EMA).⁷

Cosmetovigilância → Adquiri conhecimentos sobre o procedimento a efetuar sempre que alguma reação adversa, relacionada com produtos cosméticos que os LE comercializem, seja notificada. Estabelece-se contacto com o reclamante a fim de recolher dados mais pormenorizados sobre o produto em causa e a reação adversa que ocorreu; preenche-se um formulário adequado para o efeito, a Ficha de Reclamação de Cosmetovigilância, e envia-se para a ClinReal por *e-mail*. Esta empresa, sediada em França, mas independente dos LE, é especialista em Cosmetovigilância e ficará encarregue de contactar o reclamante (deve falar português) e dar continuidade ao caso. No ato do telefonema que os LE efetuam com o reclamante, recolhe-se a morada do mesmo a fim de lhe enviar um envelope pré-pago para este enviar o produto para a ClinReal e esta submetê-lo a um rigoroso controlo de qualidade. Proceder-se ao registo em ficheiro *Excel* da reclamação de Cosmetovigilância.

Reclamações de Qualidade → Obtive conhecimento sobre o procedimento a efetuar sempre que alguma reclamação de qualidade sobre um produto que os LE comercializem seja notificada. Estabelece-se contacto com o reclamante a fim de recolher dados mais pormenorizados sobre o produto em causa e os dados do reclamante; envia-se um envelope pré-pago ao reclamante para este enviar o produto para os LE e estes enviam, em conjunto com o formulário preenchido adequado ao caso, a Ficha de Reclamação de Qualidade, para o fabricante a fim deste submetê-lo a um rigoroso controlo de qualidade. Proceder-se ao registo em ficheiro *Excel* da reclamação de Qualidade.

2.1.5) Marketing

O departamento de *Marketing* contempla gestoras de produto as quais gerem as diferentes marcas comercializadas pelos LE, idealizando e projetando materiais promocionais, estratégias, campanhas, novos produtos, etc. Todos os trabalhos desenvolvidos por este departamento são validados pela pessoa responsável pelos Assuntos Regulamentares (AR),

uma área que também contactei e a qual considero que constituiu um ponto forte já que me possibilitou a aprendizagem dos pontos relacionados com a publicidade dos produtos cosméticos, nomeadamente a legislação que rege as alegações e o código da publicidade, tal como o Regulamento (UE) n.º 655/2013, da Comissão e os Decretos-Lei n.º 115/2009, de 18 de maio e n.º 189/2008, de 24 de setembro.^{8,9,10} Além disso permitiu-me perceber a dinâmica envolvida com o utente/consumidor.

2.1.6) Integração na equipa

O bom ambiente que se vive entre toda a equipa proporcionou-me uma ótima integração e adaptação ao estágio, fomentando o meu espírito de equipa e entejuda.

2.2) Weaknesses – Fraquezas

2.2.1) Sem contacto com área de produção e investigação

Um ponto fraco do estágio foi o facto de não ter contactado com a área da produção e investigação dos LE, uma vez que a unidade de fabrico e de investigação estão localizadas em França. No entanto, tive acesso aos posters científicos.

2.2.2) Duração curta

O estágio teve uma duração curta que não me permitiu contactar com todos os procedimentos que uma empresa farmacêutica de dermocosmética realiza, nomeadamente na área de Assuntos Regulamentares.

Durante o estágio não me foi possível assistir a uma auditoria realizada à operadora logística dos LE, a Dilofar. Esta, por norma, é realizada anualmente e não coincidiu com o período do estágio. No entanto, tive acesso ao relatório dessa auditoria que foi realizada em dezembro de 2016.

2.2.3) Limitações de conhecimento em cosmética

No que toca ao MICF e em termos de conteúdos programáticos, considero que é limitado em cosmetologia e deveria ser mais abrangente no que toca a este tipo de produtos que constituem cada vez mais uma aposta para as farmácias. Em Portugal existem muitos laboratórios de PC e seria vantajoso um jovem farmacêutico, ao enveredar nesta área, estar mais apto no que toca ao conhecimento da panóplia de produtos que existem no mercado.

2.3) Opportunities – Oportunidades

2.3.1) Experiência Profissional

Foi uma grande oportunidade estagiar nos LE Portugal.

Permitiu-me entrar em contacto com entidades externas à empresa, como farmácias, locais de venda de MNSRM, instituições de saúde e os diferentes profissionais de saúde que enveredam nestas áreas.

A aprendizagem adquirida na área de Assuntos Regulamentares e Controlo de Qualidade constituem vantagens em termos de ganho de experiência profissional.

O conhecimento aprofundado que adquiri dos produtos comercializados pelos LE será no futuro uma mais-valia se exercer a profissão numa Farmácia Comunitária (FC) que venda estes produtos, e até no meu próximo estágio que será em FC. Sentir-me-ei mais confiante no aconselhamento dos mesmos. Para além dos produtos, adquiri conhecimentos acerca da pele do bebé, da criança, da grávida e das suas problemáticas, o que no futuro poderão constituir uma vantagem em termos de diagnóstico realizado numa FC.

2.3.2) Contacto permanente com a língua francesa e inglesa

Os LE são uma empresa farmacêutica e de dermocosmética sediada em França, representada em muitos países da União Europeia, incluindo Portugal. As embalagens primária, secundária, FI e Resumo das Características do Medicamento (RCM) (em casos aplicáveis) dos produtos e respetivos materiais promocionais contêm textos em várias línguas. Uma das funções que me cabia era verificar se os textos em português correspondiam aos textos franceses e ingleses, ou traduzir diretamente para posterior aprovação pela sede. Isto possibilitou-me desenvolver as minhas competências linguísticas, constituindo por isso uma oportunidade de futuro se quiser ingressar num mercado de trabalho estrangeiro.

2.3.3) Multidisciplinaridade

Por várias vezes organizei e estruturei os lineares que os LE dispõem nas suas instalações, assim como quando acompanhei os formadores, *merchandisers* e vendedores às farmácias. A disposição dos produtos nos lineares por indicação farmacêutica, nomeadamente a tipologia de pele do bebé e o cuidado, confere-lhe um melhor aspeto visual, uma melhor organização e maior rapidez no aconselhamento. Esta função que cumpri nos LE é uma oportunidade para que no futuro desempenhe bem esta tarefa, já que, para efeitos curriculares, o estágio em FC é obrigatório e uma das funções que vou desempenhar é esta mesma.

O contacto com várias áreas da empresa, nomeadamente AR, Vigilância, *Marketing* e Logística, permitiu-me trabalhar com vários profissionais da empresa e com entidades externas à empresa e isso foi muito enriquecedor.

2.3.4) TIC

Foi uma oportunidade perceber a gestão e organização dentro de uma empresa: o tipo de comunicação interna e externa (uso do *Outlook* e pastas de rede) efetuada, o registo de todos os procedimentos, protocolos e acontecimentos em ficheiros de formato *Excel*. Isto permitiu-me familiarizar-me cada vez mais com as TIC.

2.4) Threats - Ameaças

2.4.1) Contacto com a língua francesa

O facto de o contacto com a língua francesa constituir uma oportunidade também foi uma ameaça, mais encarada como um desafio pois não domino a língua francesa.

2.4.2) Contacto com um medicamento

Os LE apenas comercializam um medicamento, o Parasidose® 2 mg/g Champô. Este medicamento (MNSRM) é utilizado no tratamento da pediculose. Por comercializarem apenas este medicamento, o farmacêutico fica afastado, inevitavelmente, do contacto com os medicamentos, os quais constituem a especialidade da profissão farmacêutica. No entanto, ainda consultei os *dossiers* de AIM deste medicamento, o que me fez aproximar ainda mais da área dos Assuntos Regulamentares.

3) Conclusão

Considero o balanço deste estágio muito positivo, pois evoluí a nível profissional e pessoal, desenvolvi mais competências, como o trabalho em equipa, adquiri conhecimentos básicos de uma empresa que serão muito úteis na minha ingressão no mercado de trabalho, bem como alarguei os meus horizontes no que diz respeito ao meu futuro profissional.

Durante todo o período de estágio fui a única estagiária nos LE, reconhecendo como exemplar o acompanhamento que me foi dado durante o mesmo, tanto ao nível de integração, como de orientação e formação.

O contacto com as diversas áreas da empresa, com os diferentes estatutos de produtos e a dinâmica envolvida em todas as tarefas que me foram dadas a conhecer e que desempenhei, desde a consulta dos procedimentos, à realização dessas mesmas tarefas e ao registo foi uma mais-valia para o meu estágio.

Quanto ao MICEF, algumas unidades curriculares como “Assuntos Regulamentares do Medicamento”, “Farmacovigilância e Farmacoepidemiologia”, “Comunicação e *Marketing* Farmacêutico” adaptaram-se ao meu estágio e auxiliaram-me na compreensão de tarefas que realizei.

Apesar do estágio ter uma componente fundamental na área dos Assuntos Regulamentares do Medicamento e na Qualidade do produto acabado, é de salientar, ainda, a aprendizagem na área da cosmética que, sem dúvida, enriqueceu o meu estágio e constituirá uma mais-valia para o meu futuro profissional.

É claro que um farmacêutico é um estudante para toda a vida e a formação e contínua experiência é que ditarão o sucesso.

4) Referências Bibliográficas

1. LABORATÓRIOS EXPANSCIENCE - **Experiência**. [Acedido a 02 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <http://www.expanscience.pt/experiencia>.
2. MUSTELA® - **Perséose de Abacate**®. [Acedido a 02 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <https://www.Mustela®.pt/content/Perseose-de-Abacater>.
3. LABORATÓRIOS EXPANSCIENCE - **Compromissos** [Acedido a 02 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <http://www.expanscience.pt/compromissos>.
4. INFARMED – GABINETE JURÍDICO E CONTENCIOSO - **Decreto-Lei n.º 145/2009, de 17 de junho**. (2009) [Acedido a 02 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:342:0059:0209:pt:PDF>.
5. INFARMED - **Circular Informativa n.º 185/CD/8.1.6 de 31 de julho de 2013**. (2013) [Acedido a 02 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/9046292.PDF/>.
6. JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA - **Regulamento (CE) n.º 1223/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho de 30 de Novembro de 2009**. [Acedido a 02 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:342:0059:0209:pt:PDF>.
7. INFARMED - **CIOMS FORM**. [Acedido a 02 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/CIOMS+I_exemplo.pdf/.
8. JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA - **Regulamento (UE) n.º 655/2013 da Comissão de 10 de julho de 2013**. [Acedido a 02 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013R0655&from=PT>.

9. INFARMED – GABINETE JURÍDICO E CONTENCIOSO - **Decreto-Lei n.º 115/2009, de 18 de maio.** (2009) [Acedido a 02 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: http://www.infarmed.pt/documents/15786/1076326/115-AI_DL_115_2009.pdf/.

10. INFARMED – GABINETE JURÍDICO E CONTENCIOSO - **Decreto-Lei n.º 189/2008, de 24 de setembro.** (2008) [Acedido a 02 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: http://www.infarmed.pt/documents/15786/1076326/115-A_DL_189_2008_5Alt-A.pdf/.

5) Anexos

I. Conferência de Imprensa.



II. Formação para Farmacêuticos nas cidades de Porto e Lisboa.



III. Formação para enfermeiras no Hospital da Luz Arrábida.



V. Formação para grávidas no Hospital do Barreiro.



IV. Saída com a merchandiser.



Parte III

Parasitoses Intestinais: Diagnóstico recorrendo à técnica de Reação de Polimerização em Cadeia em tempo real quantitativa (qPCR) e *multiplex* qPCR

Abreviaturas e Siglas

DNA – *Deoxyribonucleic Acid* (Ácido Desoxirribonucleico)

DALY's – *Disability-Adjusted-Life-Years* (anos de vida perdidos por mortes prematuras ou deficiência)

EPG – *Eggs per gram* (Número de ovos por grama de fezes)

FECT – *Formalin-Ether Concentration Technique* (Técnica de Concentração com Formalina-Éter)

FPC – *Fecal Parasite Concentrator* (Concentrador de Parasitas Fecais)

IMC – Índice de Massa Corporal

KK – *Kato-Katz*

MDA – *Mass Drug Administration* (Administração Massiva de Fármacos)

NTD's – *Neglected Tropical Diseases* (Doenças Tropicais Negligenciadas)

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCR – *Polymerase Chain Reaction* (Reação de Polimerização em Cadeia)

qPCR – *quantitative real-time Polymerase Chain Reaction* (Reação de Polimerização em Cadeia em tempo real quantitativa)

SAF – *Sodium acetate-Acetic acid-Formalin* (Acetato de sódio-Ácido acético-Formalina)

SSTT – *Spontaneous Sedimentation in Tube Technique* (Técnica de Sedimentação Espontânea em Tubo)

TFT – *Triple Feces Test* (Teste Triplo de Fezes)

VPP – Valor Preditivo Positivo

VPN – Valor Preditivo Negativo

Resumo

Os parasitas intestinais têm sido identificados em todo o mundo. No entanto, é nas regiões tropicais e subtropicais onde a sua prevalência é maior e onde a maioria dos países se encontra em vias de desenvolvimento. As populações destes países apresentam-se, geralmente, infetadas com pelo menos um parasita, não apenas devido à área de elevada endemicidade onde habitam, como também pelas más condições socioeconómicas e maus padrões de higiene. O diagnóstico das parasitoses intestinais nestes países recorre, geralmente, a métodos microscópicos, por serem baratos e simples de executar. Contudo, vários estudos têm-se aplicado em métodos moleculares, como o qPCR e *multiplex* qPCR, que demonstram ser mais sensíveis e específicos, caracterizando com maior exatidão a epidemiologia das parasitoses intestinais, permitindo a monitorização da eficácia da terapêutica instituída às populações afetadas, tornando possível a implementação de programas de Administração Massiva de Fármacos (MDA) o mais eficientes possível.

Palavras-chave: Parasitoses Intestinais; Saúde Pública; Diagnóstico; Microscópio; PCR em tempo real quantitativa.

Abstract

Intestinal parasites have been identified all over the world. However, it is in tropical and subtropical regions where its prevalence is higher and where most of the countries are developing. Populations of these countries are, usually, infected with at least one parasite, not only due to the high endemicity area where they live, but also due to poor socioeconomic conditions and poor hygiene standards. The diagnosis of intestinal parasitic diseases in these countries, usually, involves microscopic methods, since they are inexpensive and simple to perform. However, several studies have been applied on molecular methods such as qPCR and multiplex qPCR, which prove to be more sensitive and specific, characterizing with greater accuracy the epidemiology of intestinal parasitic infections, allowing the monitoring of the efficacy of the established therapy to the affected populations, making possible the implementation of Mass Drug Administration (MDA) programs as efficient as possible.

Keywords: Intestinal Parasitic Infections; Public Health; Diagnosis; Microscope; quantitative real-time PCR.

I) Introdução

Um parasita é um organismo que vive no exterior ou no interior de um outro organismo vivo (hospedeiro), e que se alimenta deste ou a partir deste, apresentando esta associação unilateralidade de benefícios.¹ Os parasitas intestinais têm sido identificados em populações de todos os países do mundo e de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que 3,5 bilhões de pessoas estejam infetadas com algum tipo de parasita intestinal.²

Apesar das infecções parasitárias ocorrerem em todo o mundo, é nas zonas tropicais e subtropicais que a prevalência é maior, ou seja, nos países mais pobres. As infecções parasitárias constituem, assim, um grave problema de saúde pública que afeta principalmente as crianças destes países. As principais infecções parasitárias que ocorrem nestas zonas são devidas a protozoários (giardíase, amebíase e criptosporidíase) e a helmintas (schistosomíase e outras helmintíases). Estas infecções foram classificadas como Doenças Tropicais Negligenciadas (*Neglected Tropical Diseases* – NTD's), pois como o próprio nome indica são negligenciadas, persistindo nestas sociedades que socialmente e economicamente são mais desfavorecidas.^{3,4} As NTD's, que incluem também infecções bacterianas e virais, afetam 1 bilhão de pessoas em todo o mundo, causando múltiplos problemas físicos e cognitivos o que, no futuro, contribuirá para o impacto negativo na produtividade e conseqüentemente para a contínua instabilidade económica destes países.^{5,6}

A infecção com parasitas intestinais pode ser assintomática ou sintomática, ocorrendo, nestes casos, diarreia e outros sintomas de gastroenterite. Em comparação com infecções virais e bacterianas, identificar o parasita patogénico nem sempre é fácil. A identificação do parasita é realizada por observação microscópica de quistos, ooquistos, trofozoítos, larvas ou ovos nas fezes, constituindo a técnica convencional de diagnóstico. Esta técnica é trabalhosa e morosa, é pouco sensível se a carga parasitária for baixa e requer pessoal técnico especializado. Assim, o diagnóstico recorrendo a métodos moleculares tem-se tornado uma aposta cada vez maior, como a Reação de Polimerização em Cadeia em tempo real quantitativa (qPCR) que tem demonstrado ser uma técnica altamente específica e sensível.⁷

Esta monografia pretende abordar e comparar a eficácia dos métodos de diagnóstico, aplicados às infecções parasitárias intestinais.

2) Parasitoses Intestinais

Os principais parasitas responsáveis por parasitoses intestinais em todo o mundo, em especial nas áreas endêmicas, pertencem a dois grandes grupos: protozoários e helmintas (Tabela 1).^{3,7-26}

Giardia lamblia (*G. lamblia*) é o protozoário mais comum em todo o mundo. Todos os anos são reportados 500 mil novos casos.⁸ Este protozoário intestinal tem uma prevalência de 2 a 3% em países industrializados e 20 a 30% em países de baixo e médio rendimentos.⁴ A prevalência de giardíase aumenta nos períodos de maior temperatura e humidade, podendo ou não ser sintomática. Quando sintomática, pode ser aguda ou crónica, manifestando-se com diarreia persistente, cólicas abdominais e flatulência, constituindo, assim, uma doença de maior risco para as crianças.⁹

O género *Cryptosporidium* (*C. parvum* e *C. hominis*) provoca a parasitose intestinal denominada de criptosporidíase que afeta, essencialmente, crianças com idade inferior a 5 anos e constitui uma causa frequente de diarreia nos indivíduos.⁸ Apesar de ser uma infeção autolimitada, se afetar um indivíduo imunodeprimido, pode levar à morte.^{27, 28, 29} *C. parvum* é mais frequentemente encontrado no médio oriente, estando associado a sintomas de diarreia. *C. hominis* é predominante nos países em desenvolvimento e está associado a sintomas de diarreia e vómitos.^{30,31}

Entamoeba histolytica (*E. histolytica*), a principal ameba patogénica, é prevalente na Índia, África, este da Ásia, América do Sul e América Central,³² constituindo a segunda maior causa de diarreia em crianças entre os 24 e os 29 meses de idade.³³

A criptosporidíase e amebíase causaram em 2010 cerca de 155 300 mortes e 10,5 milhões de DALY's (*Disability-Adjusted-Life-Years* – anos de vida perdidos por mortes prematuras ou deficiência).³⁴ Em 2013, das doenças relacionadas com parasitas, a amebíase foi a 4ª mais mortal.^{35,36}

A schistosomíase também constitui um grave problema de saúde pública nos países de baixo e médio rendimentos, nomeadamente na América do Sul, África, Caraíbas e regiões este do Mediterrâneo, afetando mais de 200 milhões de pessoas em todo o mundo.^{37,38,39} *Schistosoma mansoni* (*S. mansoni*) constitui uma das espécies do género *Schistosoma* que mais infeta o ser humano.³⁸ No seu ciclo de vida, ao invadir múltiplos órgãos, causa hepatoesplenomegália, doenças pulmonares, intestinais, renais, nervosas e, ocasionalmente, lesões tumorais,³⁸ constituindo a helmintíase mais mortífera.²

As infecções parasitárias intestinais por helmintas (helminthíases) afetam mais de 1 bilhão de pessoas em todo o mundo⁴⁰ e são responsáveis por 8,5 milhões de DALY's.^{41,42,43} O impacto das infecções intestinais por helmintas depende de vários fatores, nomeadamente a espécie de helminta, a intensidade da infecção e o sistema imunitário do hospedeiro. Estas infecções podem desencadear efeitos crónicos na saúde do indivíduo, especialmente se a infecção ocorrer em crianças ou em indivíduos imunodeprimidos.^{44,45,46} Os helmintas mais prevalentes são *Ascaris lumbricoides* (*A. lumbricoides*), *Trichuris trichiura* (*T. trichiura*), *Ancylostoma duodenale* (*A. duodenale*), *Necator americanus* (*N. americanus*) e *Strongyloides stercoralis* (*S. stercoralis*).²⁰ *N. americanus* e *A. duodenale*, vulgarmente conhecidos como vermes em gancho, são responsáveis por 740 milhões de infecções em todo o mundo, sendo *N. americanus* o mais comum e com maior predominância no sudeste asiático. As infecções com *A. duodenale* aparecem em zonas geográficas mais restritas (ambientes mais frescos e secos). As infecções causadas por estes dois parasitas são a principal causa de anemia no mundo e a severidade depende do número de seres adultos que habitam o lúmen intestinal.^{45,46,47,48}

S. stercoralis, tal como todos os outros parasitas mencionados (Tabela I), é um helminta negligenciado.⁴⁹ Este parasita afeta 30 a 100 milhões de pessoas em todo o mundo e é, provavelmente, a helmintíase mais subestimada.⁵⁰ É muito importante tratar a infecção causada por *S. stercoralis* dada a sua significativa morbilidade e mortalidade em doentes imunodeprimidos, não apenas em áreas endémicas, como também em imigrantes que são portadores desta infecção para os países desenvolvidos.⁵¹

Em geral, as helmintíases intestinais não costumam causar graves complicações, excepto o *S. stercoralis* que, no seu ciclo de vida, pode amadurecer até ao estágio de larva filarióide no lúmen intestinal, causando a autoinfecção do hospedeiro por penetração da larva através da mucosa, levando o parasita a invadir outros órgãos. Em indivíduos imunodeprimidos, a infecção pode tornar-se crónica e colocar a pessoa em risco de vida. Esta situação está descrita como hiper-infecção.⁵²

Tabela 1: Principais Protozoários e Helminthas responsáveis por parasitoses intestinais em zonas de elevada endemicidade e a principal via de transmissão do parasita.

Classificação	Parasita	Via de transmissão	Referências
PROTOZOÁRIOS	<i>Giardia lamblia</i>	FECAL-ORAL	3, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15
	<i>Cryptosporidium parvum</i>		7, 8, 10, 11, 12, 14, 15
	<i>Cryptosporidium hominis</i>		8, 10, 11, 12, 14, 15
	<i>Entamoeba histolytica</i>		3, 7, 8, 10, 12, 13, 14, 15
HELMINTAS	<i>Schistosoma mansoni</i>		3, 15, 16, 17, 18
	<i>Trichuris trichiura</i>		10, 12, 15, 17, 18, 19, 20
	<i>Ascaris lumbricoides</i>		10, 11, 12, 15, 17, 18, 19, 20, 21
	<i>Ancylostoma duodenale</i>		3, 10, 12, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24
	<i>Necator americanus</i>		3, 10, 12, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24
	<i>Strongyloides stercoralis</i>		10, 11, 12, 15, 17, 19, 20, 21, 25, 26

2.1) Fatores de risco associados a parasitoses intestinais

Apesar das infeções parasitárias intestinais serem consideradas ainda NTD's, como já referenciado anteriormente, estas são alvo de muitos estudos, nomeadamente ao nível das condições socioeconómicas, das condições sanitárias e comportamentos de higiene que a população dos países das regiões endémicas apresenta, os quais constituem fatores de risco para a saúde destes indivíduos.

2.1.1) Condições socioeconómicas

As parasitoses intestinais são infeções endémicas das zonas tropicais e subtropicais, onde os países, na sua maioria, estão em vias de desenvolvimento. Um estudo conduzido em Burkina Faso, país da África Ocidental, avaliou as condições socioeconómicas de populações residentes em áreas rurais e associou-as à prevalência das parasitoses intestinais.³ A falta de acesso a água potável, as condições habitacionais e a agricultura contribuem para a permanência das NTD's (Tabela 2).³

Tabela 2: Condições socioeconómicas predominantes em zonas rurais dos países das regiões endémicas, as quais contribuem para o risco de transmissão de parasitoses intestinais.

Nível de escolaridade predominante Sem quaisquer habilitações literárias. ^{3,18}
Atividade principal de subsistência Agricultura. ^{3,13,15,53}
Condições da habitação Material do telhado predominante: Metal. ³ Material das paredes predominante: Argila simples. ³ Material do chão predominante: Argila simples ou cozida. ³ Fonte de energia predominante: Lenha e carvão. / Sem eletricidade. ^{3,18} Animais de estimação: A maioria tem animal de estimação. ³
Principais fontes de água Poço. ^{3,53} Rio ou Lagoa. ^{18,53} Canais de irrigação. ⁵³
Modo de armazenamento da água Potes ou a céu aberto. ³ Reservatórios públicos. ¹³

2.1.2) Condições sanitárias e comportamentos de higiene

Aliadas às condições socioeconómicas, encontram-se o pobre saneamento e os maus comportamentos de higiene, que, de forma significativa, contribuem para a prevalência e incidência destas infeções.³

A maioria da população considera positivo possuir uma latrina, pois proporciona maior segurança, ambiente limpo, conforto, privacidade e prevenção de doenças. No entanto, não constrói este tipo de instalações porque considera dispendioso. Além disso, defecar ao ar livre constitui uma prática tradicional nos meios rurais dos países em desenvolvimento e, mesmo que as habitações tenham uma latrina, a população continua a defecar ao ar livre.¹⁸

A tabela 3 apresenta as condições sanitárias e comportamentos de higiene predominantes em zonas rurais dos países das regiões endémicas, onde a maioria da população não apresenta os corretos padrões de higiene, pois lava as mãos apenas com água e sem a frequência desejada, defeca ao ar livre e não tem qualquer instalação sanitária.³

Nalgumas zonas rurais, é comum, ainda, a população andar descalça. Este hábito aumenta o risco de transmissão de helmintíases, já que as larvas que se encontram no solo, ao contactarem com a pele, conseguem penetrar para o organismo e originar uma parasitose (risco maior no caso de *A. duodenale* e *N. americanus*).¹⁹

Tabela 3: Condições sanitárias e comportamentos de higiene predominantes em zonas rurais dos países das regiões endémicas, as quais contribuem para o risco de transmissão de parasitoses intestinais.

<p style="text-align: center;">Lavagem das mãos</p> <p style="text-align: center;">Modo predominante: Só com água.³</p> <p style="text-align: center;">Frequência de lavagem: A maioria lava as mãos antes de uma refeição.³ A maioria não lava as mãos depois de defecar.³</p>
<p style="text-align: center;">Práticas sanitárias na escola</p> <p style="text-align: center;">A maioria utiliza as latrinas.^{3,13} Uma significativa percentagem defeca ao ar livre.^{3,13}</p>
<p style="text-align: center;">Condições sanitárias na habitação</p> <p style="text-align: center;">Nenhuma habitação detém sanita.³</p> <p style="text-align: center;">A maioria das habitações não detém qualquer instalação sanitária, a defecação é feita ao ar livre.^{3,18}</p> <p style="text-align: center;">Algumas habitações detêm latrinas.^{3,53}</p> <p style="text-align: center;">A maioria das habitações detém um duche.¹⁸</p>

O melhoramento das condições sanitárias, a adequação dos despejos dos excrementos, a educação para a saúde, a implementação de regras básicas de higiene, o tratamento da água para consumo e o seu correto armazenamento (intervenções *WASH*) constituem medidas que diminuem o número de infeções e reinfeções por parasitas intestinais, já que a sua principal via de transmissão é a fecal-oral, ou seja, a ingestão de água ou alimentos contaminados com fezes. Assim, é possível diminuir a intensidade (carga parasitária) destas infeções, diminuir o grau de morbilidade em crianças de idade escolar e diminuir as NTD's até à sua completa eliminação,³ logo ter um maior controlo das helmintíases intestinais e outras doenças de transmissão fecal-oral.⁵⁴

2.2) Impacto na saúde pública a curto e longo prazo

As infeções parasitárias intestinais podem causar morbilidade significativa, especialmente em crianças que, geralmente, estão mais propensas a desenvolver este tipo de infeções, sofrendo de diarreia, desnutrição e anemia.^{55,56}

A diarreia é a segunda maior causa de morte entre as crianças com idade inferior a 5 anos, causando globalmente cerca de 1,5 milhões de mortes por ano.⁵⁷

Os indivíduos que vivem nas zonas rurais dos países mais pobres estão habitualmente infetados com múltiplos parasitas.⁵⁸ Investigar as implicações na morbilidade do poliparasitismo é particularmente relevante para os prestadores de cuidados de saúde em países em desenvolvimento, já que estes devem fazer uma triagem dos doentes para implementar estrategicamente a terapêutica.⁵⁹ O poliparasitismo está associado a anemia, atrofia no crescimento e peso baixo. De acordo com as *guidelines* da OMS, a anemia é definida como a concentração de Hemoglobina ([Hb]) menor que 11.5 g/dL para crianças entre os 5 e os 11 anos de idade; [Hb] menor que 12.0 g/dL para crianças entre os 12 e os 14 anos de idade; [Hb] menor que 12.0 g/dL para mulheres com mais de 14 anos de idade; [Hb] menor que 13.0 g/dL para homens com mais de 14 anos de idade. A atrofia no crescimento está definida como o *z-score* para a altura e a idade menor que -2 e o peso baixo está definido como o *z-score* para o Índice de Massa Corporal (IMC) menor que -2.⁶⁰

A infeção com vermes em gancho, *A. duodenale* e *N. americanus*, está associada à anemia e deficiência em ferro. Os seres adultos aderem à mucosa do lúmen intestinal, causando perdas de sangue, défice de ferro e anemia. A severidade deste estado fisiopatológico está diretamente relacionada com o número de seres adultos que habitam no intestino, ou seja, a carga parasitária. Há, portanto, uma correlação positiva entre o número de seres adultos que

habitam no intestino e o déficit de ferro e há uma correlação negativa entre a carga parasitária e a concentração de hemoglobina.^{24,61,62,63}

A deficiência em ferro sem anemia é uma condição fisiopatológica que deve ser reconhecida, pois a deficiência deste mineral pode atrasar o desenvolvimento cognitivo em crianças de idade pré-escolar e escolar.^{64,65}

A atrofia no crescimento e o peso baixo são duas condições que se observam em crianças que vivem nos meios rurais dos países em desenvolvimento. As crianças com atrofia no crescimento, comparadas com as que apresentam uma altura considerada normal para a idade, têm mais probabilidade de ter anemia. A deficiência em ferro, que normalmente está associada a um estado anémico, também contribui para a atrofia no crescimento, demonstrando que a suplementação com ferro a estas crianças tem um efeito positivo sobre o seu crescimento.⁶⁶

O peso baixo está associado, maioritariamente, à desnutrição. Crianças parasitadas com pelo menos 2 parasitas, comparadas com as que não têm qualquer infeção parasitária intestinal ou mesmo monoparasitadas, apresentam falta de apetite. Aliado a este facto encontra-se também a má absorção dos nutrientes a nível intestinal, quer pela própria presença do parasita, quer pelo facto da mucosa se encontrar danificada. A atrofia no crescimento e o peso baixo são, assim, fortes indicadores de desnutrição crónica.^{60,67}

A desnutrição encontra-se, ainda, associada à diarreia. Enquanto que doenças diarreicas predis põem crianças para a desnutrição e para a atrofia no crescimento, a desnutrição, igualmente, predis põe as crianças para um aumento da frequência de episódios diarreicos e para um aumento na sua duração.⁵⁵

Assim, é espectável que as parasitoses intestinais, que ocorrem em mais de 2 biliões de pessoas em todo o mundo, com maior frequência nos países em desenvolvimento, tenham como consequências a longo prazo a diminuição das capacidades cognitivas dos indivíduos afetados e o atraso no seu desenvolvimento, como problemas de aptidão, cognição ou fluência semântica e verbal, gerando níveis de escolaridade baixos.⁶⁸ Por isso, as taxas de crescimento físico corporal baixas, em média 8,2 cm de déficit de crescimento se as parasitoses intestinais com diarreia persistirem nos primeiros 2 anos de vida, e o déficit cognitivo gerados são condições suficientes para que a produtividade nestes países continue baixa, contribuindo para um ciclo vicioso (Figura 1).⁶⁸

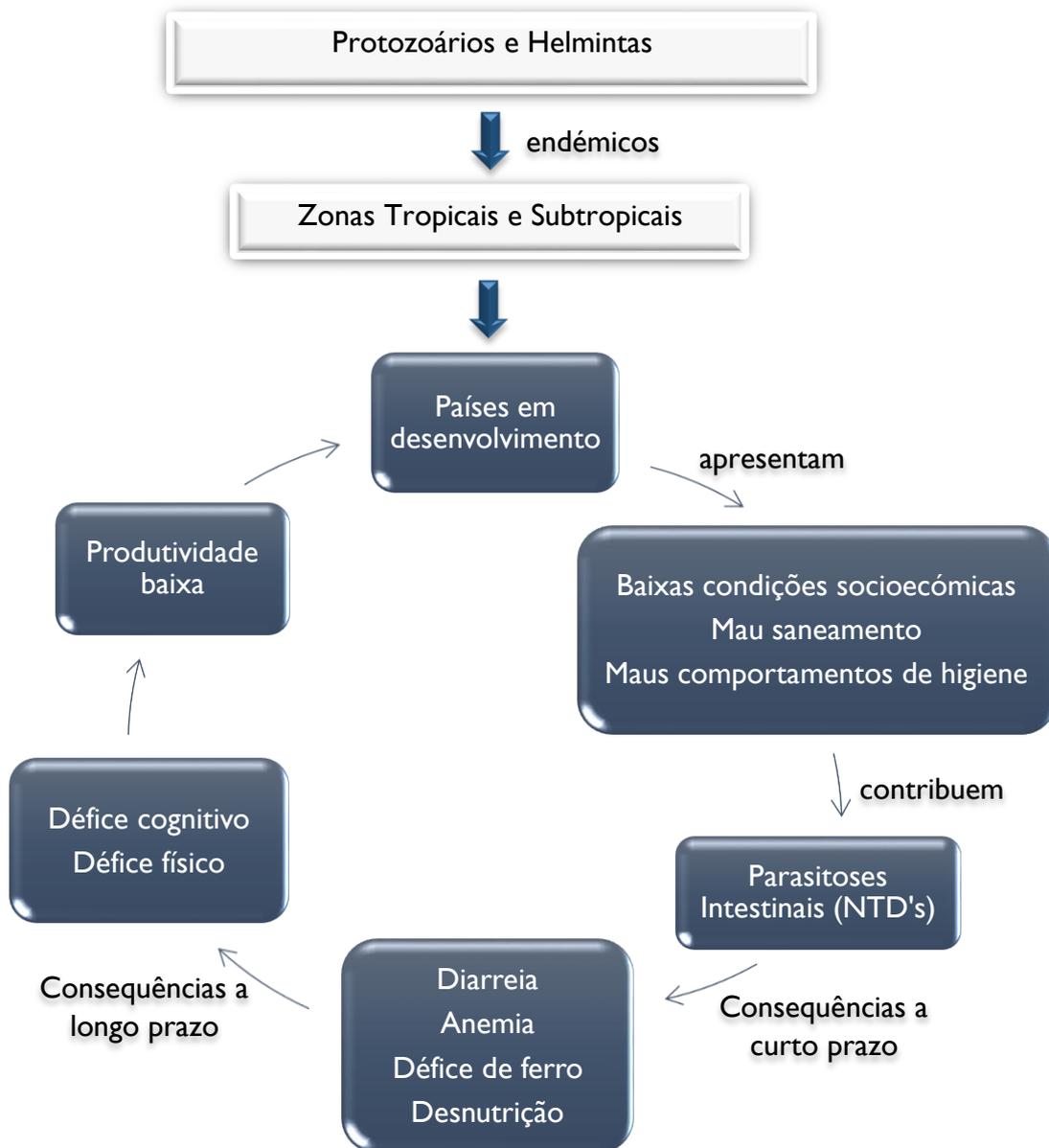


Figura 1: Parasitoses intestinais no contexto das áreas endêmicas. As populações de países em desenvolvimento apresentam baixas condições socioeconômicas, problemas no saneamento e maus comportamentos de higiene, o que constitui um risco para a sua saúde, aumentando a prevalência e a incidência de parasitoses intestinais, consideradas ainda NTD's. Estas infecções originam a curto prazo diarreia, anemia, déficit de ferro e desnutrição, condições fisiopatológicas que a longo prazo comprometem o crescimento físico e o desenvolvimento cognitivo dos indivíduos, tendo como consequências a baixa produtividade da população e a contínua instabilidade econômica destes países.

3) Diagnóstico de Parasitoses Intestinais

O diagnóstico de parasitoses intestinais depende, na maioria das vezes, da observação microscópica de ovos, larvas, trofozoítos, quistos e ooquistos nas fezes.^{69,70}

Idealmente deve ser selecionada a técnica com maior exatidão de diagnóstico para o parasita de interesse. Na prática, isto é difícil de alcançar, já que muitas espécies de parasitas podem ocorrer numa determinada população ou apenas num único indivíduo (poliparasitismo) e os recursos nas zonas endêmicas são limitados. Há que selecionar, portanto, a técnica mais conveniente. Na última década têm surgido técnicas moleculares de diagnóstico mais específicas e sensíveis que os métodos microscópicos, como a deteção do DNA do parasita, recorrendo à técnica de qPCR e *multiplex* qPCR.⁷¹ Estas técnicas, apesar de dispendiosas, já são usadas em laboratórios centralizados de muitos países de baixo e médio rendimentos.¹⁵

3.1) Técnicas microscópicas

3.1.1) Exame Direto

Dentro das técnicas microscópicas, o exame direto constitui a menos sensível. Apesar de ser uma técnica muito utilizada no diagnóstico de parasitoses intestinais em áreas endêmicas, por ser uma técnica muito simples, conduz a uma subnotificação da presença de qualquer parasita.^{10,12,19}

3.1.2) Método de Baermann

Estudos realizados em Moçambique, Gana, Perú e Tanzânia utilizaram métodos microscópicos para determinar a prevalência de vários parasitas nestas regiões.^{12,19,20,25} Um dos métodos utilizado foi o método de Baermann para a deteção de larvas de *S. stercoralis*. Este método, além de ser apenas específico na deteção de larvas, é um método difícil de implementar em áreas que reúnam poucas condições, como é o caso dos meios rurais das regiões endêmicas, bem como constitui um método moroso.^{12,19,20,25}

3.1.3) Coprocultura

A coprocultura é mais sensível que algumas técnicas microscópicas para a deteção de certos parasitas, nomeadamente *S. stercoralis*, *A. duodenale* e *N. americanus*. No caso dos vermes em gancho, torna-se extremamente útil para a sua diferenciação: o processo de amadurecimento da larva até ao estágio L3s (larva filarióide) permite distinguir a espécie. Uma desvantagem deste processo é o facto de ser bastante moroso, já que os resultados só poderão ser identificados ao fim de 1 semana.^{12,22} Uma outra desvantagem desta técnica é o facto de as caixas de Petri terem de permanecer fechadas durante esse tempo de incubação, o que nas zonas tropicais favorece o crescimento de fungos.²²

3.1.4) Teste Triplo de Fezes (*Triple Feces Test – TFT*)

O TFT é útil, na medida em que ocorre diariamente a expulsão alternada (em dias diferentes), através das fezes, de quistos e trofozoítos de várias espécies de protozoários, sendo, assim, possível diagnosticar com um maior rendimento as várias espécies de protozoários intestinais infetantes. A desvantagem deste teste consiste no uso da substância Acetato de sódio-Ácido acético-Formalina (*Sodium acetate-Acetic acid-Formalin – SAF*) como substância fixadora, que contém na formalina o componente tóxico carcinogénico, o Formaldeído. Além disso, são necessárias 3 amostras de fezes. No entanto, o uso do SAF torna-se útil na medida em que é possível detetar a espécie *Dientamoeba fragilis* (*D. fragilis*), que recentemente tem vindo a ganhar importância como causa de sintomas gastrointestinais, em que é necessária uma prévia conservação da amostra, nomeadamente em SAF.¹⁴

3.1.5) Técnica de Concentração com Formalina-Éter (*Formalin-Ether Concentration Technique – FECT*)

A Técnica de Concentração com Formalina-Éter utiliza um concentrador de parasitas fecais (*Fecal Parasite Concentrator – FPC*) que permite uma melhor observação dos ovos e quistos nas amostras de fezes.¹² No entanto, este método de diagnóstico revela baixas taxas de deteção, o que torna necessário a análise de múltiplas amostras de fezes para que a sensibilidade do método atinja níveis adequados.²⁵ É considerado um método inapropriado para o diagnóstico de protozoários intestinais, mas revela grande sensibilidade para o diagnóstico de helmintas, excepto *S. stercoralis*.¹²

3.1.6) Kato-Katz

A técnica de *Kato-Katz* (KK) é mais informativa que a FECT, pois para além da deteção dos parasitas permite também a sua quantificação. No entanto, é mais adaptada a helmintas, através da contagem de ovos por grama de fezes (*Eggs per gram* – EPG), do que a protozoários.¹² O KK é uma técnica regularmente utilizada em áreas de elevada endemicidade, pois os recursos económicos são mais limitados e esta técnica, sendo simples e quantitativa, pode considerar-se suficiente para o diagnóstico destas infeções. No entanto, é uma técnica que necessita de parasitologistas qualificados, pois é passível de erros no momento da contagem dos ovos dos helmintas.⁷² Aliás, esta técnica deve ser executada no máximo 30 minutos após a recolha das amostras de fezes, pois muitos dos ovos, com o decorrer do tempo, tornam-se invisíveis.²² A técnica é pouco recomendada em zonas de baixa endemicidade, pois no diagnóstico de infeções de baixo nível, ou seja, quando a carga parasitária é pequena, a sensibilidade é baixa.^{20,73,74,75} Quanto maior a contagem de EPG, maior a probabilidade de se detetar um indivíduo infetado; quanto menor a contagem de EPG, menor a probabilidade de se detetar um indivíduo infetado.¹⁵

3.1.7) Técnica de Sedimentação Espontânea em Tubo (*Spontaneous Sedimentation in Tube Technique -SSTT*)

A Técnica de Sedimentação Espontânea em Tubo requer equipamentos mínimos e pode ser facilmente implementada em quaisquer condições que existam no terreno, mesmo em áreas extremamente pobres.¹⁹ No entanto, os resultados da SSTT necessitam de ser validados com estudos em maior escala, pois é incapaz de quantificar o número total de ovos a partir do sedimento. Além disso, a amostra é apenas uma e de pequena dimensão. Não obstante, comparada com outras técnicas microscópicas, é um método barato, simples de executar, de alta sensibilidade e que pode ser implementado nas áreas mais pobres.¹⁹

3.1.8) Desvantagens gerais da utilização de técnicas microscópicas

As técnicas microscópicas são pouco sensíveis. A capacidade de deteção de parasitas na amostra depende do número de organismos presentes, ou seja, da carga parasitária: baixos níveis de infeção, ou seja, baixas cargas parasitárias, conduzem a baixas sensibilidades destes métodos de diagnóstico e consequentemente à subnotificação destas infeções.^{3,76} O facto de

não se conseguir identificar, através da observação microscópica, a presença de ovos, larvas, trofozoítos, quistos ou ooquistos, não se pode inferir com certeza que é devido a baixos níveis de infeção.¹⁰ Torna-se, assim, necessária a recolha e análise de múltiplas amostras, para maximizar a sensibilidade dos métodos, o que também constitui uma desvantagem.^{10,20} Uma outra alternativa é a combinação de vários métodos microscópicos para diagnóstico de parasitoses intestinais, que também contribui para aumentar a sensibilidade da técnica.²⁰

As técnicas microscópicas são, também, pouco específicas. A microscopia é incapaz de distinguir espécies de parasitas morfológicamente semelhantes, como é o caso de *E. histolytica* e *E. dispar*.^{3,4,8,10,12-15,77,78} O mesmo se aplica para as espécies *A. duodenale* e *N. americanus*, em que a observação microscópica dos ovos para diferenciação da espécie é muito difícil.^{12,21,22,23}

Outras desvantagens deste tipo de técnicas é o facto de serem técnicas morosas^{7,10,13,14,15,20,22,77} e de necessitarem de microscopistas bem treinados,^{12,22} existindo uma tendência para o pessoal especializado em microscopia decrescer.²¹

3.2) PCR em tempo real quantitativa (qPCR) e *multiplex* qPCR

3.2.1) Sensibilidade

A técnica do qPCR e *multiplex* qPCR é capaz de detetar uma única espécie de parasita rapidamente, bem como detetar duas ou mais infeções concorrentes mais facilmente do que os métodos microscópicos.¹⁰

Esta técnica molecular distingue indivíduos sem qualquer infeção parasitária e indivíduos poliparasitados com maior exatidão.¹⁰ O poliparasitismo é um fator importante a ter em conta na implementação de administração massiva de fármacos (*Mass Drug Administration* – MDA) e na decisão da terapêutica antiparasitária mais adequada a instituir nestes indivíduos.⁷⁹ Além disso, identificar indivíduos poliparasitados pode fornecer informações sobre as consequências patológicas da interação entre os diferentes parasitas que partilham o mesmo nicho anatómico,¹⁰ nomeadamente o aumento da diversidade microbiota existente no lúmen intestinal.⁸⁰

Por ser uma técnica altamente sensível, deteta baixos níveis de infeção, sendo, assim, possível a administração de terapêutica antiparasitária a um maior número de indivíduos.^{21,76} Além disso, tem a vantagem de detetar DNA de parasitas em qualquer fase do seu ciclo de vida, enquanto que as técnicas microscópicas, normalmente, estão otimizadas para um único

estágio.¹⁰ Considera-se, assim, que detém uma maior sensibilidade de diagnóstico para todos os parasitas.^{12,15}

A técnica do qPCR e *multiplex* qPCR permite uma quantificação precisa dos parasitas.¹⁵ Enquanto que as sondas inseridas no tubo reacional permitem a deteção do parasita, os valores C(t) (ciclo de limiar) apresentados pelo qPCR e *multiplex* qPCR permitem a quantificação do parasita, ou seja, a carga parasitária, a partir da correlação com o número de cópias de DNA alvo que foram inseridas no tubo reacional inicial. Baixos níveis de C(t) correspondem a altas cargas de DNA do parasita e vice-versa. O intervalo C(t) (valores mínimo e máximo) deve ser estabelecido a fim de determinar que resultados serão considerados positivos e negativos.^{7,12,17,21,22}

O qPCR e *multiplex* qPCR constituem, assim, técnicas muito mais sensíveis que as técnicas microscópicas (simples ou combinadas).¹²

3.2.2) Especificidade

Relativamente às técnicas de microscopia, o qPCR e *multiplex* qPCR auferem maiores taxas de deteção para qualquer parasita e um aumento na especificidade de diagnóstico, distinguindo espécies de parasitas morfológicamente semelhantes as quais nem sempre são patogénicas, como é o caso do par de parasitas *E. histolytica* e *E. dispar*, em que a primeira, patogénica, é muitas vezes sobrediagnosticada, o que pode originar a implementação errónea de uma terapêutica antiparasitária.^{3,4,8,10,12-15,77,78} O mesmo se aplica para as espécies *A. duodenale* e *N. americanus*, em que a observação microscópica dos ovos para diferenciação da espécie é muito difícil.^{12,21-23}

3.2.3) Impacto na implementação da terapêutica

Um diagnóstico exato permite um tratamento adequado, pois é dirigido e não empírico e possibilita um tratamento a um maior número de pessoas. Um diagnóstico pouco sensível, como a microscopia, conduz a uma subestima da prevalência destas infeções, levando a que muitas pessoas não sejam tratadas.^{3,15,20,21,24}

Em zonas endémicas é habitual a implementação de programas de desparasitação, denominados de MDA, como anteriormente mencionado, em que em intervalos de tempo regulares são administrados à população anti-helmínticos. Estes programas, integrados com intervenções WASH, reduzem a morbilidade causada por estas doenças, pois reduzem o

número de reinfeções e transmissões ocorrentes. Um diagnóstico que recorre às técnicas moleculares qPCR e *multiplex* qPCR garante dados de prevalência destas infeções mais confiáveis o que beneficia a eficiência da implementação destes programas. No entanto, a dúvida quanto à eficácia e sustentabilidade dos programas de MDA persiste, pois as reinfeções e transmissões continuam a ocorrer, os padrões e comportamentos de higiene nestas zonas ainda têm de melhorar e os parasitas podem desenvolver resistência aos fármacos.^{3,7,15,18,20,22,24}

Por vezes, aquando da utilização de métodos de diagnóstico menos sensíveis e específicos, ocorre o sobrediagnóstico de parasitoses causadas por agentes patogénicos que, na verdade, não são patogénicos. Utilizando técnicas mais sensíveis e específicas é possível detetar e corrigir esses erros, na medida em que não se providencia a esses indivíduos terapêutica antiparasitária e, assim, é possível a redução de custos.⁸

3.2.4) Outras vantagens

As técnicas moleculares de diagnóstico requerem menos pessoal qualificado para executar a técnica.^{15,77} Para além de serem técnicas rápidas de executar,⁸ é apenas necessária uma amostra para análise.¹⁴

Comparativamente à técnica de PCR convencional, o qPCR aplicado a várias espécies de parasitas fornece um diagnóstico a nível mundial alternativo pois permite a deteção e a quantificação, enquanto diminui a probabilidade de ocorrência de erros humanos e a contaminação de DNA, além de ser uma técnica mais rápida, já que não é necessária a execução de uma eletroforese.^{21,22}

Além de todos estas vantagens, o *multiplex* qPCR permite a combinação eficiente de múltiplos alvos num único tubo para uma única reação de amplificação, reduzindo assim o custo dos reagentes.^{7,8,21,22,72,77}

3.2.5) Desvantagens

O passo determinante para a eficácia da técnica de qPCR e *multiplex* qPCR é a extração do DNA da amostra.⁷⁶

Quando a recolha de amostras é executada em zonas endémicas, onde na maioria das vezes não existe um laboratório que disponha de material apropriado, as amostras têm que permanecer conservadas até à chegada ao centro de investigação. Em muitas situações, esta conservação faz-se mediante a criopreservação das amostras (- 80.°C)¹⁰. Contudo, é possível

a sua conservação à temperatura ambiente, desde que as amostras sejam mantidas em soluções de etanol.²⁴

Na técnica do qPCR e *multiplex* qPCR é sempre usado um *primer* e uma sonda adicionais para amplificação e detecção de um controlo interno. Este controlo interno é útil na detecção de possíveis inibições da reação de amplificação, ou seja, para controlar a presença de resultados falsos negativos.¹⁰ Se todas as amplificações do controlo interno resultarem em valores C(t) menores que determinado valor previamente definido, então comprova-se que a reação de amplificação não foi inibida por quaisquer substâncias que poderiam existir na amostra. Para controlar a presença de resultados falsos positivos, adicionam-se ao tubo reacional controlos positivos e estes devem resultar em valores C(t) maiores que determinado valor previamente definido.²¹

Em zonas endémicas é habitual a persistência de DNA nos tecidos ou fluidos corporais de agentes patogénicos que já estão mortos, ou seja, em que a infeção já se encontra resolvida. A persistência é variável, desde dias a semanas ou meses, dependendo do compartimento corporal afetado e da quantidade inicial de agentes patogénicos. Assim, a detecção de DNA parasitário, ou de outro tipo de agente patogénico, não significa que a infeção esteja em curso, ou seja, a técnica qPCR pode dar origem a resultados falsos positivos.^{11,81} Estas situações ocorrem mais frequentemente quando a amostra é de indivíduos aparentemente saudáveis, sem sintomas gastrointestinais (vómitos, diarreia, cólicas abdominais, febre, perda de sangue, fadiga, perda de apetite ou icterícia).¹¹

Para se conseguir distinguir entre agentes patogénicos e não patogénicos, através das técnicas de qPCR e *multiplex* qPCR, os alvos de DNA utilizados têm de ser altamente específicos para uma espécie de parasita pois, se por exemplo, um agente não patogénico do mesmo género do alvo de DNA estiver presente na amostra, pode ocorrer uma reação cruzada e gerar-se um falso positivo.¹¹

Da mesma maneira, a detecção de um parasita só é possível se no tubo da reação de amplificação o alvo molecular a identificar estiver presente (*primer* e sonda correspondentes a uma determinada espécie de parasita). Se várias infeções coexistirem, muitas poderão não ser detetadas se os correspondentes *primers* e sondas não estiverem no tubo da reação. A componente microscópica completa esta lacuna, pois permite identificar numa primeira abordagem as possíveis infeções presentes.^{14,82}

A execução destas técnicas moleculares só é possível em laboratórios de alta tecnologia, o que constitui um desafio nos países de áreas endémicas, pois o custo dos equipamentos e reagentes é avultado.¹²

Se os resultados alcançados nestes métodos moleculares não forem verificados por outros métodos microscópicos como, por exemplo, o TFT¹⁴ ou a técnica KK¹², é possível ocorrerem falsos positivos.²¹

3.2.6) Aplicação do qPCR e *multiplex* qPCR

As técnicas moleculares de qPCR e *multiplex* qPCR podem ser aplicadas em estudos epidemiológicos em áreas endêmicas de parasitoses intestinais,^{3,8-11,15,16,24} assim como em estudos em população poliparasitada nessas mesmas áreas.^{12,60}

Uma das grandes aplicações destas técnicas é a monitorização da eficácia da terapêutica antiparasitária instituída em áreas de elevada endemicidade. A recolha de amostras de fezes dos habitantes destas regiões antes e após a implementação da terapêutica permite controlar o estado infeccioso dos indivíduos.^{10,12,15,16,20,21,60}

Em áreas de baixa endemicidade, a aplicação do qPCR e *multiplex* qPCR permite o diagnóstico de doenças entéricas restritas a viajantes/imigrantes que provêm de países endêmicos e que apresentam sintomas de parasitoses intestinais.^{11,82} No entanto, há autores que consideram útil a aplicação destas técnicas moleculares não apenas a viajantes e imigrantes, como possíveis portadores de doenças entéricas, mas também a todos os outros indivíduos que residem nestas áreas de baixa transmissão.^{7,12,14,15,25,77}

Além do diagnóstico de doenças entéricas em países desenvolvidos, um estudo realizado na Nigéria prevê a utilização de técnicas moleculares na continuidade de estudos clínicos e epidemiológicos de amebíases em países desenvolvidos.¹³

Constituindo técnicas altamente sensíveis e específicas, o qPCR e *multiplex* qPCR podem, ainda, ser aplicados no controlo de qualidade de procedimentos microscópicos.¹²

3.3) Alguns estudos comparativos de diagnóstico de parasitoses intestinais

Na tabela 4 estão referenciados alguns estudos de diagnóstico de parasitoses intestinais em que se compararam os métodos microscópicos com os métodos moleculares, nomeadamente a nível da sensibilidade e especificidade.

Um estudo realizado na população coreana recorreu às técnicas de diagnóstico molecular e microscópico, utilizando a técnica de *multiplex* qPCR e a Técnica de Concentração com Formalina-Éter (FECT), respetivamente.⁷ A análise com a técnica de *multiplex* qPCR revelou ser 100% específica e 100% sensível no diagnóstico dos parasitas *C. parvum*, *G. lamblia*,

E. histolytica, *Blastocystis hominis*, *D. fragilis*, *Clonorchis sinensis*, *Metagonimus yokogawai* e *Gymnophalloides seoi*, bem como apresentou um VPP (Valor Preditivo Positivo) e um VPN (Valor Preditivo Negativo) de 100% para todas as espécies. O método microscópico revelou apenas uma sensibilidade de 29.4% e uma especificidade de 100% para as mesmas espécies. O VPP foi de 100% e o VPN foi 89.8%, o que equivale a dizer que o método microscópico origina falsos negativos, sendo pouco sensível, ao contrário da técnica *multiplex* qPCR que demonstrou ser 100% sensível (Tabela 4).⁷

Amostras de fezes de 396 doentes egípcios com sintomas diarreicos foram analisadas recorrendo às técnicas microscópicas de exame direto e concentração formol-etil acetato e à técnica molecular de *multiplex* qPCR.⁸ Comparativamente ao método molecular, o método microscópico depois da concentração formol-etil acetato revelou uma sensibilidade de 33.3% para *Cryptosporidium* spp., 57.8% para *G. lamblia* e 100% para *E. histolytica*/*E. dispar*. A especificidade variou entre os 85.5% para *G. lamblia*, 91% para *E. histolytica*/*E. dispar* e 100% para *Cryptosporidium* spp.. Os valores VPP foram 18.6% para o par de parasitas *E. histolytica*/*E. dispar*, 70.2% para *G. lamblia* e 100% para *Cryptosporidium* spp.. Os valores VPN foram 77.5% para *G. lamblia*, 98% para *Cryptosporidium* spp e 100% para *E. histolytica*/*E. dispar*. Assim, demonstra-se a possibilidade de ocorrerem falsos negativos e falsos positivos com os métodos microscópicos para o diagnóstico de infeções parasitárias intestinais (Tabela 4).⁸

Um estudo realizado no Equador, comparou as técnicas microscópicas, exame direto e KK (*Kato-Katz*), com o método molecular qPCR no diagnóstico de parasitoses intestinais em 400 amostras de crianças com 13 meses de idade.¹⁰ A técnica qPCR revelou uma especificidade para *A. lumbricoides* de 97.8% e um VPN de 96.7%. Para o parasita *T. trichiura*, a especificidade foi de 99.2% e o VPN de 99.2%. Apesar de não indicado, as técnicas microscópicas utilizadas neste estudo foram menos sensíveis e menos específicas que as técnicas microscópicas (Tabela 4).¹⁰

Recentemente, um estudo analisou amostras de fezes recorrendo às técnicas microscópicas exame direto, FECT, KK, método de Baermann e coprocultura e à técnica molecular qPCR.¹² O qPCR demonstrou ter uma sensibilidade maior que 90% para todas as espécies de parasitas diagnosticadas (*S. stercoralis*, *A. duodenale*, *N. americanus*, *A. lumbricoides*, *S. mansoni* e *G. lamblia*) comparativamente às técnicas microscópicas utilizadas que, combinadas, demonstraram ser muito menos sensíveis, excepto para a espécie *T. trichiura* que não foi determinada pelo qPCR e os seus resultados baseiam-se apenas em métodos microscópicos, revelando o exame direto uma sensibilidade de aproximadamente 80% e o KK e método de Baermann sensibilidades próximas dos 100% (Tabela 4).¹²

Tabela 4: Comparação da sensibilidade e especificidade dos métodos utilizados no diagnóstico de parasitoses intestinais.

Referência	Amostragem	Método Microscópico		Método Molecular	
		Sensibilidade	Especificidade	Sensibilidade	Especificidade
7	117	FECT: 29.4% para <i>C. parvum</i> , <i>G. lamblia</i> , <i>E. histolytica</i> , <i>B. hominis</i> , <i>D. fragilis</i> , <i>C. sinensis</i> , <i>M. yokogawai</i> e <i>G. seoi</i> .	FECT: 100% para <i>C. parvum</i> , <i>G. lamblia</i> , <i>E. histolytica</i> , <i>B. hominis</i> , <i>D. fragilis</i> , <i>C. sinensis</i> , <i>M. yokogawai</i> e <i>G. seoi</i> .	multiplex qPCR: 100% para <i>C. parvum</i> , <i>G. lamblia</i> , <i>E. histolytica</i> , <i>B. hominis</i> , <i>D. fragilis</i> , <i>C. sinensis</i> , <i>M. yokogawai</i> e <i>G. seoi</i> .	multiplex qPCR: 100 % para <i>C. parvum</i> , <i>G. lamblia</i> , <i>E. histolytica</i> , <i>B. hominis</i> , <i>D. fragilis</i> , <i>C. sinensis</i> , <i>M. yokogawai</i> e <i>G. seoi</i> .
8	396	Concentração FEA ^a : <i>Cryptosporidium</i> spp. 33.3%; <i>G. lamblia</i> 57.8%; <i>E. histolytica</i> /E. dispar 100%.	Concentração FEA ^a : <i>Cryptosporidium</i> spp. 100%; <i>G. lamblia</i> 85.5%; <i>E. histolytica</i> /E. dispar 91%.	multiplex qPCR: ND ^b .	multiplex qPCR: ND ^b .
10	400	Exame Direto e KK: ND ^b .	Exame Direto e KK: ND ^b .	Exame Direto e KK: ND ^b .	qPCR: <i>A. lumbricoides</i> 97.8%; <i>T. trichiura</i> 99.2%.
12	303	Exame Direto, FECT, KK, Método de Baermann e Coprocultura combinados: <i>S. mansoni</i> <20%; <i>G. lamblia</i> <30%; <i>A. lumbricoides</i> >90%; <i>A. duodenale</i> /N. americanus <90%; <i>S. stercoralis</i> <70%. T. trichiura: Exame Direto ≈ 80%; KK ≈ 100%; Método de Baermann ≈ 100%.	Exame Direto, FECT, KK, Método de Baermann, Coprocultura: ND ^b .	qPCR : <i>S. mansoni</i> 97%; <i>G. lamblia</i> 99%; <i>A. lumbricoides</i> >90%; <i>A. duodenale</i> /N. americanus >90%; <i>S. stercoralis</i> >90%.	qPCR: ND ^b .
14	397	TFT: <i>G. lamblia</i> 64%; <i>D. fragilis</i> 54%.	TFT: ND ^b .	qPCR: <i>G. lamblia</i> 98%; <i>D. fragilis</i> 96%.	qPCR: 100% para <i>G. lamblia</i> e <i>D. fragilis</i> .
15	796	KK: <i>A. lumbricoides</i> 70%; <i>N. americanus</i> 32%.	KK: <i>A. lumbricoides</i> 100%; <i>N. americanus</i> 100%.	qPCR: <i>A. lumbricoides</i> 98%; <i>N. americanus</i> 98%.	qPCR: <i>A. lumbricoides</i> 100%; <i>N. americanus</i> 100%.
16	194	KK: <i>S. mansoni</i> 78.9%.	KK: <i>S. mansoni</i> 100%.	PCR: <i>S. mansoni</i> 97.4%.	PCR: <i>S. mansoni</i> 100%.
22	339	Exame Direto, KK e Coprocultura: ND ^b .	Exame Direto, KK e Coprocultura: ND ^b .	qPCR: <i>A. duodenale</i> 100% 100%; <i>N. americanus</i> 100% 99.5%; <i>O. bifurcum</i> 86.7% 98.5%.	qPCR: 100% para <i>A. duodenale</i> , <i>N. americanus</i> e <i>O. bifurcum</i> .
72	185	ND ^b .	ND ^b .	multiplex qPCR: <i>G. lamblia</i> 92%; <i>C. parvum</i> /hominis 96%; <i>E. histolytica</i> 100%.	multiplex qPCR: <i>G. lamblia</i> 100%; <i>C. parvum</i> /hominis 100%; <i>E. histolytica</i> 100%.

^a Concentração FEA: Concentração formol-etil acetato

^b ND: Não Definido.

Na Europa, foi conduzido um estudo que analisou 397 amostras de fezes provenientes de doentes com sintomas diarreicos.¹⁴ O estudo recorreu ao método microscópico TFT (Teste Triplo de Fezes) e ao qPCR para diagnosticar possíveis parasitoses intestinais por protozoários. O qPCR apresentou uma sensibilidade de 98% para *G. lamblia* e 96% para *D. fragilis*, comparativamente ao TFT que apresentou uma sensibilidade de 64% para *G. lamblia* e 54% para *D. fragilis*. Este estudo demonstrou que a alta sensibilidade da técnica de qPCR, aliada ao facto de ser apenas necessária uma amostra para o diagnóstico de protozoários intestinais, grupo de parasitas mais prevalente em zonas não endémicas, como é o caso do noroeste da Europa, são condições suficientes para um diagnóstico exato (Tabela 4).¹⁴

Na zona este do Quénia, foi também realizado um estudo que comparou a técnica microscópica KK com a técnica molecular qPCR no diagnóstico de parasitoses intestinais em 796 indivíduos.¹⁵ Considerando que ambas as técnicas foram 100% específicas, o qPCR revelou-se mais sensível que o KK (Tabela 4).¹⁵

No Brasil, foram analisadas, pela técnica molecular PCR e pela técnica microscópica KK, 194 amostras de fezes de indivíduos residentes numa área endémica de *S. mansoni*.¹⁶ O KK, em regra, é a melhor técnica para a deteção e quantificação de *S. mansoni*, pois é simples e pouco dispendiosa. No entanto, a sua sensibilidade decresce quando a carga parasitária é baixa.⁸³⁻⁸⁵ Considerando ambas as técnicas 100% específicas, o PCR demonstrou maior sensibilidade na deteção de *S. mansoni*, cerca de 97.4% comparativamente ao KK que teve uma sensibilidade de 78.9% (Tabela 4).¹⁶

Um estudo realizado no Gana comparou as técnicas microscópicas de exame direto, KK e coprocultura com a técnica molecular qPCR para o diagnóstico de helmintas.²² Ambos os métodos (KK e qPCR) correlacionaram-se: quanto maior o número de ovos por grama de fezes (EPG) observados, menor o valor C(t) (limiar de deteção da reação de qPCR). Em comparação com as técnicas microscópicas utilizadas, o método molecular demonstrou ser altamente sensível e específico em dois momentos de avaliação (Tabela 4).²²

Em França, comparou-se o diagnóstico de protozoários intestinais recorrendo a uma técnica microscópica e ao *multiplex* qPCR.⁷² A técnica molecular demonstrou ser altamente específica e sensível na determinação de protozoários em áreas de baixa endemicidade (Tabela 4).⁷²

4) Conclusão

As parasitoses intestinais, doenças endémicas das zonas tropicais e subtropicais, maioritariamente onde os países se encontram em vias de desenvolvimento, constituem um grave problema de saúde pública e continuam a ser negligenciadas, com repercussões a nível físico e cognitivo o que, inevitavelmente, se vai refletir na contínua instabilidade económica destes países.

Uma medida no combate às parasitoses intestinais é o conhecimento da epidemiologia destas infeções através de estudos de diagnóstico implementados em zonas onde a endemicidade é elevada. Os métodos microscópicos continuam a ser extensamente utilizados nestes estudos. Contudo, a baixa sensibilidade e especificidade destes métodos conduz a uma necessidade de implementação de outros com maior exatidão, como os métodos moleculares. Os métodos microscópicos subdiagnosticam ou sobrediagnosticam estas infeções, o que leva a uma implementação errónea da terapêutica às populações sofredoras, contribuindo para a má gestão medicamentosa e o uso não racional dos medicamentos.

A deteção e quantificação de mais do que um parasita num único tubo reacional pela técnica de qPCR (*multiplex qPCR*) demonstrou ser muito efetiva. Adotar esta abordagem em países em desenvolvimento, pelo menos num laboratório central de referência, diminuiria os gastos e possibilitaria um diagnóstico exato e rápido de várias parasitoses intestinais ao mesmo tempo, com uma única amostra.⁸

Ambos os métodos apresentam vantagens e desvantagens decorrentes da sua utilização e ambos podem ser utilizados em diferentes contextos e em países com diferentes ambientes económicos e financeiros, o que torna necessário dar continuidade à investigação nesta área com vista ao desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico que sejam exatos, sensíveis, simples, baratos, sustentáveis e que ultrapassem a necessidade de utilização de infraestruturas tecnológicas avançadas, condições estas desafiantes nos países mais pobres.

O desenvolvimento na área do diagnóstico parasitológico constituiria, assim, uma ferramenta importante na erradicação das Doenças Tropicais Negligenciadas, providenciando às populações destas regiões melhores condições de saúde, com impacto na produtividade e, consequentemente, no futuro económico dos países em desenvolvimento.

5) Referências Bibliográficas

1. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - **Parasites**. [Acedido a 7 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <https://www.cdc.gov/parasites/index.html>.
2. WORLD HEALTH ORGANIZATION - **The Global Burden of Disease: 2004 update**. [Acedido a 7 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GBD_report_2004update_full.pdf?ua=1.
3. ERISMANN, S., DIAGBOUGA, S., ODERMATT, P., KNOBLAUCH, A. M., GEROLD, J., SHRESTHA, A., GRISSOUM, T., KABORÉ, A., SCHINDLER, C., UTZINGER, J., CISSÉ, G. - Prevalence of intestinal parasitic infections and associated risk factors among schoolchildren in the Plateau Central and Centre-Ouest regions of Burkina Faso. **Parasites & Vectors** 9:554 (2016) 1-14.
4. FLETCHER, S., STARK, D., HARKNESS, J., ELLISA, J. - Enteric Protozoa in the Developed World: a Public Health Perspective. **Clinical Microbiology Reviews** 25:3 (2012) 420-449.
5. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - **CDC's Neglected Tropical Diseases Program**. [Acedido a 7 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: https://www.cdc.gov/globalhealth/ntd/resources/ntd_factsheet.pdf.
6. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – **Neglected Tropical Diseases**. [Acedido a 7 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <https://www.cdc.gov/globalhealth/ntd/index.html>.
7. WON, E. J., KIM, S. H., KEE, S. J., SHIN, J. H., SUH, S. P., CHAI, J. Y., RYANG, D. W., SHIN, M. G. - Multiplex Real-Time PCR Assay Targeting Eight Parasites Customized to the Korean Population: Potential Use for Detection in Diarrheal Stool Samples from Gastroenteritis Patients. **PLOS ONE** (2016) 1-14.
8. NAZEER, J. T., KHALIFA, K. E. S., THIEN, H. V., EL-SIBAEI, M. M., ABDEL-HAMID, M. Y., TAWFIK, R. A. S., TANNICH, E. - Use of multiplex real-time PCR for detection of common diarrhea causing protozoan parasites in Egypt. **Parasitology Research** 112 (2013) 595-601.

9. ISMAIL, M. A. M., EL-AKKAD, D. M. H., RIZK, E. M. A., EL-ASKARY, H. M., EL-BADRY, A. A. - Molecular seasonality of *Giardia lamblia* in a cohort of Egyptian children: a circannual pattern. **Parasitology Research** (2016).
10. MEJIA, R., VICUN, Y., BRONCANO, N., SANDOVAL, C., VACA, M., CHICO, M., COOPER, P. J., NUTMAN, T. B. - A Novel, Multi-Parallel, Real-Time Polymerase Chain Reaction Approach for Eight Gastrointestinal Parasites Provides Improved Diagnostic Capabilities to Resource-Limited At-Risk Populations. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 88:6 (2013) 1041-1047.
11. FRICKMANN, H., SCHWARZ, N. G., RAKOTOZANDRINDRAINNY, R. MAY, J., HAGEN, R. M. - PCR for enteric pathogens in high-prevalence settings. What does a positive signal tell us?. **Infectious Diseases** 47 (2015) 491-498.
12. MEURS, L., POLDERMAN, A. M., MELCHERS, N. V. S. V., BRIENEN, E. A. T., VERWEIJ, J. J., GROOSJOHAN, B., MENDES, F., MECHENDURA, M., HEPP, D. H., LANGENBERG, M. C. C., EDELENBOSCH, R., POLMAN, K., LIESHOUT, L. V. - Diagnosing Polyparasitism in a High-Prevalence Setting in Beira, Mozambique: Detection of Intestinal Parasites in Fecal Samples by Microscopy and Real-Time PCR. **PLOS Neglected Tropical Diseases** (2017) 1-18.
13. EFUNSHILE, M. A., NGWU, B. A. F., KURTZHALS, J. A. L., SAHAR, S., KONIG, B., STENSVOLD, C. R. - Molecular detection of the carriage rate of four intestinal protozoa with real-time polymerase chain reaction: Possible overdiagnosis of *entamoeba histolytica* in Nigeria. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 93:2 (2015) 257-262.
14. BRUIJNNESTEIJN VAN COPPENRAET, L. E. S., WALLINGA, J. A., RUIJS, G. J. H. M., BRUINS, M. J., VERWEIJ, J. J. - Parasitological diagnosis combining an internally controlled real-time PCR assay for the detection of four protozoa in stool samples with a testing algorithm for microscopy. **Clinical Microbiology and Infection** 15:9 (2009) 869-874.
15. EASTON, A. V., OLIVEIRA, R. G., O'CONNELL, E. M., KEPHA, S., MWANDAWIRO, C. S., NJENGA, S. M., KIHARA, J. H., MWATELE, C., ODIERE, M. R., BROOKER, S. J., WEBSTER, J. P., ANDERSON, R. M., NUTMAN, T. B. - Multi-parallel qPCR provides increased sensitivity

and diagnostic breadth for gastrointestinal parasites of humans: field-based inferences on the impact of mass deworming. **Parasites & Vectors** 9:38 (2016).

16. PONTES, L. A., OLIVEIRA, M. C., KATZ, N., DIAS-NETO, E., RABELLO, A. - Comparison of a Polymerase Chain Reaction and the Kato-Katz Technique for Diagnosing Infection With *Schistosoma Mansoni*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 68:6 (2003) 652-656.

17. MEURS, L., BRIENEN, E., MBOW, M., OCHOLA, E. A., MBOUP, S., KARANJA, D. M. S., SECOR, E., POLMAN, K., LIESHOUT, L. V. - Is PCR the next reference standard for the diagnosis of schistosoma in stool? A comparison with microscopy in Senegal and Kenya. **PLOS Neglected Tropical Diseases** 9:7 (2015) 1-16.

18. SCHMIDLIN, T., HURLIMANN, E., SILUE, K. D., YAPI, R. B., HOUNGBEDJI, C., KOUADIO, B. A., ACKA-DOUABLE, C. A., KOUASSI, D., OUATTARA, M., ZOUZOU, F., BONFOH, B., N'GORAN, E. K., UTZINGER, J., RASO, G. - Effects of Hygiene and Defecation Behavior on Helminths and Intestinal Protozoa Infections in Taabo, Côte d'Ivoire. **PLOS ONE** 8:6 (2013) 1-12.

19. MACHICADO, J. D., MARCOSA, L. A., TELLOA, R., CANALES, M., TERASHIMAA, A., GOTUZZO, E. - Diagnosis of soil-transmitted helminthiasis in an Amazonic community of Peru using multiple diagnostic techniques. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** 106:6 (2012) 333-339.

20. KNOPP, S., MGENI, A. F., KHAMIS, S., STEINMANN, P., STOTHARD, J. R., ROLLISON, D., MARTI, H., UTZINGER, J. - Diagnosis of soil-transmitted helminths in the era of preventive chemotherapy: Effect of multiple stool sampling and use of different diagnostic techniques. **PLOS Neglected Tropical Diseases** 2:11 (2008).

21. BASUNI, M., MUHI, J., OTHMAN, N., VERWEIJ, J. J., AHMAD, M., MISWAN, N., RAHUMATULLAH, A., AZIZ, F. A., ZAINUDIN, N. S., NOORDIN, R. - A Pentaplex Real-Time Polymerase Chain Reaction Assay for Detection of Four Species of Soil-Transmitted Helminths. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 84:2 (2011) 338-343.

22. VERWEIJ, J. J., BRIENEN, E. A. T., ZIEM, J., YELIFARI, L., POLDERMAN, A. M., LIESHOUT, L. V. - Simultaneous detection and quantification of *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, and *Oesophagostomum bifurcum* in fecal samples using multiplex real-time PCR. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 77:4 (2007) 685-690.
23. MENS, S. P. V., ARYEETEB, Y., YAZDANBAKHSHC, M., LIESOUT, L. V., BOAKYEC, D., VERWEIJ, J. J. - Comparison of real-time PCR and kato smear microscopy for the detection of hookworm infections in three consecutive faecal samples from schoolchildren in Ghana. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** 107:4 (2013) 269-271.
24. JONKER, F. A. M., CALIS, J. C. J., PHIRI, K., BRIENEN, E. A. T., KHOFFI, H., BRABIN, B. J., VERWEIJ, J. J., HENS BROEK, M. B. V., LIESHOUT, L. V. - Real-time PCR demonstrates *Ancylostoma duodenale* is a key factor in the etiology of severe anemia and iron deficiency in Malawian pre-school children. **PLOS Neglected Tropical Diseases** 6:3 (2012) 1-8.
25. VERWEIJ, J. J., CANALESB, M., POLMAN, K., ZIEMD, J., BRIENEN, E. A. T., POLDERMAN, A. M., LIESHOUT, L. V. - Molecular diagnosis of *Strongyloides stercoralis* in faecal samples using real-time PCR. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** 103:4 (2009) 342-346.
26. LODH, N., CARO, R., SOFER, S., SCOTT, A., KROLEWIECKI, A., SHIFF, C. - Diagnosis of *Strongyloides stercoralis*: Detection of parasite-derived DNA in urine. **Acta Tropica** 163 (2016) 9-13.
27. TUMWINE, J. K., KEKITINWA, A., NABUKEERA, N., AKIYOSHI, D. E., RICH, S. M., WIDMER, G., FENG, X., TZIPORI, S. - *Cryptosporidium parvum* in children with diarrhea in Mulago Hospital, Kampala, Uganda. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 68 (2003) 710-715.
28. STEINBERG, E. B., MENDOZA, C. E., GLASS, R., ARANA, B., LOPEZ, M. B., MEJIA, M., GOLD, B. D., PRIEST, J. W., BIBB, W., MONROE, S. S., BERN, C., BELL, B. P., HOEKSTRA, R. M., KLEIN, R., MINTZ, E. D., LUBY, S. - Prevalence of infection with waterborne pathogens: a seroepidemiologic study in children 6–36 months old in San Juan Sacatepequez, Guatemala. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 70 (2004) 83-88.

29. HOXIE, N. J., DAVIS J. P., VERGERONT, J. M., NASHOLD, R. D., BLAIR, K. A. - Cryptosporidiosis-associated mortality following a massive waterborne outbreak in Milwaukee, Wisconsin. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 57 (1997) 2032-2035.
30. CAMA, V. A., BERN, C., ROBERTS, J., CABRERA, L., STERLING, C. R., ORTEGA, Y., GILMAN, R. H., XIAU, L. - Cryptosporidium species and subtypes and clinical manifestations in children, Peru. **Emerging Infectious Diseases** 14 (2008) 1567-1574.
31. ADAMU, H., PETROS, B., ZHANG, G., KASSA, H., AMER, S., YE, J., FENG, Y., XIAU, L. - Distribution and clinical manifestations of Cryptosporidium species and subtypes in HIV/AIDS patients in Ethiopia. **PLOS Neglected Tropical Diseases** 8:4 (2014) e2831.
32. XIMENEZ, C., MORAN, P., ROJAS, L., VALADEZ, A., GÓMEZ, A. - Reassessment of the epidemiology of amebiasis: state of the art. **Infection, Genetics and Evolution** 9:6 (2009) 1023-1032.
33. KOTLOFF, K., NATARO, J., BLACKWELDER, W., NASRIN, D., FARAG, T., EIJK, A., ADEGBOLA, R., ALONSO, P., BREIMAN, R., FARUQUE, A., SAHA, D., SOW, S., SUR, D., ZAIDI, A., BISWAS, K., PANCHALINGAM, K., CLEMENS, J., COHEN, D., GLASS, R., MINTZ, E., SOMMERFELT, H., LEVINE, M. - Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. **Lancet** 382 (2013) 209-222.
34. HOTEZ, P. J. - Could nitazoxanide be added to other essential medicines for integrated neglected tropical disease control and elimination? **PLOS Neglected Tropical Diseases** 8:3 (2014) e2758.
35. STANLEY, S. L. - Amoebiasis. **Lancet** 361:9362 (2003) 1025-1034.
36. VOS, T., BARBER, R. M., BELL, B., BERTOZZI-VILLA, A., BIRYUKOV, S., BOLLIGER, I., et al. - Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease study 2013. **Lancet** 386:9995 (2015) 743-800.

37. DRAKE, L. J., BUNDY, D. A. P. - Multiple helminth infections in children: impact and control. **Parasitology** 122 (2001) 73-81.
38. WORLD HEALTH ORGANIZATION - **The control of schistosomiasis: Report of a WHO Expert Communittee** [Acedido a 22 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/39529/1/WHO_TRS_728.pdf.
39. CHITSULO, L., ENGELS, D., MONTRESOR, A., SAVIOLI, L. - The global status of schistosomiasis and its control. **Acta Tropica** 77 (2000) 41-51.
40. BROOKER, S., CLEMENTS, A. C., BUNDY, D. A. - Global epidemiology, ecology and control of soil-transmitted helminth infections. **Advances in Parasitology** 62 (2006) 221-261.
41. STEINMANN, P., KEISER, J., BOS, R., TANNER, M., UTZINGER, J. - Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk. **The Lancet Infectious Diseases** 6 (2006) 411-425.
42. HOTEZ, P. J., BRINDLEY, P. J., BETHONY, J. M., KING, C. H., PEARCE, E. J., JACOBSON, J. - Helminth infections: the great neglected tropical diseases. **Journal of Clinical Investigation** 118 (2008) 1311-1321.
43. MURRAY, C. J. L., VOS, T., LOZANO, R., NAGHAVI, M., FLAXMAN, A. D., et al. - Disability adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. **Lancet** 380 (2012) 2197-2223.
44. DE SILVA, N. R., BROOKER, S., HOTEZ, P. J., MONTRESOR, A., ENGELS, D., SAVIOLI, L. - Soil-transmitted helminth infections: updating the global picture. **Trends in Parasitology** 19 (2003) 547-551.
45. BROOKER, S., BETHONY, J., HOTEZ, P. J. - Human hookworm infection in the 21st century. **Advances in Parasitology** 58 (2004) 197-288.

46. HOTEZ, P. J., BROOKER, S., BETHONY, J. M., BOTTAZZI, M. E., LOUKAS, A., XIAO, S. - Hookworm infection. **New England Journal of Medicine** 351 (2004) 799-807.
47. HOTEZ, P. J., BETHONY, J., BOTTAZZI, M. E., BROOKER, S., BUSS, P. - Hookworm: "the great infection of mankind.". **PLOS Medicine** 2 (2005) e67.
48. BETHONY, J., BROOKER, S., ALBONICO, M., GEIGER, S. M., LOUKAS, A., DIEMERT, D., HOTEZ, P. J. - Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. **Lancet** 367 (2006) 1521-1532.
49. STEINMANN, P., ZHOU, X. N., DU, Z. W., JIANG, J. Y., WANG, L. B., WANG, X. Z., LI, L. H., MARTI, H., UTZINGER, J. - Occurrence of *Strongyloides stercoralis* in Yunnan province, China, and comparison of diagnostic methods. **PLOS Neglected Tropical Diseases** 1 (2007) e75.
50. OLSEN, A., VAN LIESHOUT, L., MARTI, H., POLDERMAN, T., POLMAN, K., STEINMANN, P., STOTHARD, R., THYBO, S., VERWEIJ, J. J., MAGNUSSEN, P. - Strongyloidiasis - the most neglected of the neglected tropical diseases? **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** 103 (2009) 967-972.
51. MARCOS, L. A., TERASHIMA, A., CANALES, M., GOTUZZO, E. - Update on strongyloidiasis in the immunocompromised host. **Current Infectious Disease Reports** 13 (2011) 35-46.
52. CONCHA, R., HARRINGTON, W., ROGERS, A. - Intestinal strongyloidiasis: recognition, management, and determinants of outcome. **Journal of Clinical Gastroenterology** 39 (2005) 203-211.
53. MATTHYS, B., BOBIEVA, M., KARIMOVA, G., MENGLIBOEVA, Z., JEAN-RICHARD, V., HOIMNAZAROVA, M., KURBONOVA, M., LOHOURIGNON, L. K., UTZINGER, J., WYSS, K. - Prevalence and risk factors of helminths and intestinal protozoa infections among children from primary schools in western Tajikistan. **Parasites & Vectors** 4:1 (2011) 195.

54. BARTRAM, J., CAIRNCROSS, S. - Hygiene, sanitation, and water: forgotten foundations of health. **PLOS Medicine** 7 (2010) e1000367.
55. GUERRANT, R. L., ORIA, R. B., MOORE, S. R., ORIA, M. O., LIMA, A. A. - Malnutrition as an enteric infectious disease with long-term effects on child development. **Nutrition Reviews** 66:9 (2008) 487-505.
56. HALL, A., HEWITT, G., TUFFREY, V., DE SILVA, N. - A review and meta-analysis of the impact of intestinal worms on child growth and nutrition. **Maternal and Child Nutrition** (2008) 118-236.
57. LIU, L., JOHNSON, H. L., COUSENS, S., PERIN, J., SCOTT, S., LAWN, J. E., RUDAN, I., CAMPBELL, H., CIBULSKIS, R., LI, M., MATHERS, C., BLACK, R. E. - Child Health Epidemiology Reference Group of WHO and UNICEF, 2012. Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000. **Lancet** 379 (2012) 2151-2161.
58. ASHFORD, R. W., CRAIG, P. S., OPPENHEIMER, S. J. - Polyparasitism on the Kenya coast. 2. Spatial heterogeneity in parasite distributions. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology** 87 (1993) 283-293.
59. EZEAMAMA, A. E., MCGARVEY, S. T., ACOSTA, L. P., ZIERLER, S., MANALO, D. L., WU, H., KURTIS, J. D., MOR, V., OLVEDA, R. M., FRIEDMAN, J. F. - The Synergistic Effect of Concomitant Schistosomiasis, Hookworm, and Trichuris Infections on Children's Anemia Burden. **PLOS Neglected Tropical Diseases** 2 (2008) e245.
60. MUPFASONI, D., KARIBUSHII, B., KOUKOUNARI, A., RUBERANZIZA, E., KABERUKA, T., KRAMER, M. H., MUKABAYIRE, O., KABERA, M., NIZEYIMANA, V., DEVILLE, M., RUXINI, J., WEBSTER, J. P., FENWICK, A. - Polyparasite helminth infections and their association to anaemia and undernutrition in Northern Rwanda. **PLOS Neglected Tropical Diseases** 3:9 (2009).
61. STOLTZFUS, R. J. - Iron-deficiency anemia: reexamining the nature and magnitude of the public health problem. Summary: implications for research and programs. **Journal of Nutrition** 131 (2001) 697S-700S.

62. CROMPTON, D. W., WHITEHEAD, R. R. - Hookworm infections and human iron metabolism. **Parasitology** 107 (1993) S137-S145.
63. ROCHE, M., LAYRISSE, M. - The nature and causes of "hookworm anemia". **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 15 (1966) 1029-1102.
64. TOLENTINO, K., FRIEDMAN, J. F. - An update on anemia in less developed countries. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 77 (2007) 44-51.
65. IANNOTTI, L. L., TIELSCH, J. M., BLACK, M. M., BLACK, R. E. - Iron supplementation in early childhood: health benefits and risks. **American Journal of Clinical Nutrition** 84 (2006) 1261-1276.
66. BHANDARI, N., BAHL, R., TANEJA, S. - Effect of micronutrient supplementation on linear growth of children. **British Journal of Nutrition** 85:2 (2001) S131-137.
67. STEPHENSON, L. S., LATHAM, M. C., OTTESEN, E. A. - Malnutrition and parasitic helminth infections. **Parasitology** 121 (2000) 23-38.
68. PETRI, W. A. J., MILLER, M., BINDER, H. J., LEVINE, M. M., DILLINGHAM, R., GUERRANT, R. L. - Enteric infections, diarrhea, and their impact on function and development. **Journal of Clinical Investigation** 118 (2008) 1277-1290.
69. GARCIA, L.S. - Diagnostic medical parasitology. **LWW** (2007).
70. WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Basic laboratory methods in medical parasitology**. Geneva: World Health Organization, 1991. [Acedido a 9 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/40793/1/9241544104_\(part1\).pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/40793/1/9241544104_(part1).pdf) e [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/40793/2/9241544104_\(part2\).pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/40793/2/9241544104_(part2).pdf).
71. VERWEIJ, J. J., STENSVOLD, C. R. - Molecular testing for clinical diagnosis and epidemiological investigations of intestinal parasitic infections. **Clinical Microbiology Reviews** 27:2 (2014) 371-418.

72. LEVECKE, B., BEHNKE, J. M., AJJAMPUR, S. S., ALBONICO, M., AME, S. M., CHARLIER, J., GEIGER, S. M., HOA, N. T., NGASSAM, R. I., KOTZE, A. C., MCCARTHY, J. S., MONTRESOR, A., PERIAGO, M. V., ROY, S., TCHUENTÉ, L. A., THACH, D. T., VERCRUYSSSE, J. - A comparison of the sensitivity and fecal egg counts of the McMaster egg counting and Kato-Katz thick smear methods for soil-transmitted helminths. **PLOS Neglected Tropical Diseases** 5:6 (2011) e1201.
73. BERGQUIST, R., JOHANSEN, M. V., UTZINGER, J. - Diagnostic dilemmas in helminthology: what tools to use and when? **Trends in Parasitology** 25:4 (2009) 151-156.
74. LAMBERTON, P. H., KABATEREINE, N. B., OGUTTU, D. W., FENWICK, A., WEBSTER, J. P. - Sensitivity and specificity of multiple Kato-Katz thick smears and a circulating cathodic antigen test for *Schistosoma mansoni* diagnosis preand post-repeated-praziquantel treatment. **PLOS Neglected Tropical Diseases** 8:9 (2014) e3139.
75. BOOTH, M., VOUNATSOU, P., N'GORAN, E. K., TANNER, M., UTZINGER, J. - The influence of sampling effort and the performance of the Kato-Katz technique in diagnosing *Schistosoma mansoni* and hookworm co-infections in rural Côte d'Ivoire. **Parasitology** 127 (2003) 525-531.
76. WOLK, D. M., SCHNEIDER, S. K., WENGENACK, N. L., SLOAN, L. M., ROSENBLATT, J. E. - Real-time PCR method for detection of *Encephalitozoon intestinalis* from stool specimens. **Journal of Clinical Microbiology** 40 (2002) 3922-3928.
77. LAUDE, A., VALOT, S., DESOUBEAUX, G., ARGY, N., NOURRISSON, C., POMARES, C., MACHOUART, M., LE GOVIC, Y., DALLE, F., BOTTEREL, F., BOURGEOIS, N., CATEAU, E., LETERRIER, M., LE PAPE, P., MORIO, F. - Is real-time PCR-based diagnosis similar in performance to routine parasitological examination for the identification of *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium parvum* / *Cryptosporidium hominis* and *Entamoeba histolytica* from stool samples? Evaluation of a new commercial multiplex PCR assay and literature review. **Clinical Microbiology and Infection** (2016).

78. LIESHOUT, L. V., ROESTENBERG, M. - Clinical consequences of new diagnostic tools for intestinal parasites. **Clinical Microbiology and Infection** 21:6 (2015) 520-528.
79. HOTEZ P. - Enlarging the “audacious goal”: elimination of the world’s high prevalence neglected tropical diseases. **Vaccine** 29:4 (2011) D104-D110.
80. LEE, S. C., TANG, M. S., LIM, Y. A. L., CHOY, S. H., KURTZ, Z. D., COX, L. M., GUNDRU, U. M., CHO, I., BONNEAU, R., BLASER, M. J., CHUA, K. H., LOKE, P. - Helminth Colonization Is Associated with Increased Diversity of the Gut Microbiota. **PLOS Neglected Tropical Diseases** 8:5 (2014).
81. VAN DEN BIJLLAARDT, W., OVERDEVEST, I. T., BUITING, A. G., VERWEIJ, J. J. - Rapid clearance of *Giardia lamblia* DNA from the gut after successful treatment. **Clinical Microbiology and Infection** 20 (2014).
82. ESBROECK, M. V., VERVOORT, T., ENDE J., LIESHOUT, L., VERWEIJ, J. J. - Molecular diagnostics of intestinal parasites in returning travellers. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases** 28 (2009) 1045-1053.
83. DOENHOFF M. J. - Is schistosomicidal chemotherapy subcurative? Implications for drug resistance. **Parasitology Today** 14 (1998) 434-435.
84. GRYSEELS, B., VLAS, S. J. - Worm burden in schistosome infections. **Parasitology Today** 12 (1996) 115-119.
85. EBRAHIM, A., EL-MORSHEDEY, H., OMER, E., EL-DALY, S., BARAKAT, R. - Evaluation of the Kato-Katz thick smear and formol ether sedimentation techniques for quantitative diagnosis of *Schistosoma mansoni* infection. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 57 (1997) 706-708.