

Hidatidose Humana no Brasil

Manual de Procedimentos Técnicos para o Diagnóstico Parasitológico e Imunológico

Hidatidose Humana no Brasil

Manual de Procedimentos Técnicos para o Diagnóstico Parasitológico e Imunológico

Série A. Normas e Manuais Técnicos

© 2011 Ministério da Saúde.

Todos os direitos reservados. É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte e que não seja para venda ou qualquer fim comercial. A responsabilidade pelos direitos autorais de textos e imagens dessa obra é da área técnica. A coleção institucional do Ministério da Saúde pode ser acessada, na íntegra, na Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde: http://www.saude.gov.br/bvs.

Tiragem: 1ª edição - 2011 - 500 exemplares

Elaboração, distribuição e informações:

MINISTÉRIO DA SAÚDE

Secretaria de Vigilância em Saúde

Departamento de Vigilância Epidemiológica

Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública

Núcleo de Comunicação

SCS Quadra 04, Bloco A, Edifício Principal, 3º andar, Brasília/DF, CEP: 70,304-000

E-mail: svs@saude.gov.br

Endereço eletrônico: www.saude.gov.br/svs

Coordenação geral:

Rosângela Rodrigues-Silva

Elaboração:

Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados. Serviço de Referência Nacional em Hidatidose.

Rosângela Rodrigues-Silva Fernanda Barbosa de Almeida José Roberto Machado-Silva

Colaboração:

Aline Kelen Vesely Reis Lucas de Andrade Barros Nilton Guiotti Sigueira

Revisão técnica:

José Mauro Peralta

Produção editorial

Coordenação: Núcleo de Comunicação/GAB/SVS Capa: NJOBS Comunicação (Eduardo Grisoni) Projeto gráfco: NJOBS Comunicação (Eduardo Grisoni) Diagramação: NJOBS Comunicação (Marília Assis)

Revisão: NJOBS Comunicação (Ana Cristina Vilela, Fernanda Gomes e Lizandra Deusdará Felipe) Normalização: NJOBS Comunicação (Ana Cristina Vilela, Fernanda Gomes e Lizandra Deusdará Felipe)

Normalização:

Márcia Cristina Tomaz de Aquino - Editora MS

Impresso no Brasil / Printed in Brazil

Ficha Catalográfica

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde.

Hidatidose humana no Brasil : manual de procedimentos técnicos para o diagnóstico parasitológico e imunológico / Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde; Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados. Serviço de Referência Nacional em Hidatidose – Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

63 p. : il. - (Série A. Normas e Manuais Técnicos)

ISBN 978-85-334-1832-5

1. Doenças parasitárias. 2. Diagnóstico. 3. Biossegurança. I. Título. II. Série.

CDU 616.993

Catalogação na fonte – Coordenação-Geral de Documentação e Informação – Editora MS – OS 2011/0063

Títulos para indexação:

Em inglês: Human hydatid disease in Brazil: technical manual of procedures for the parasitological and immunological diagnosis Em espanhol: Human hidatídico enfermedad en Brasil: manual técnico de los procedimientos para el diagnóstico parasitológico y inmunológico

Sumário

Glossário • 60

```
Apresentação • 5
Introdução • 7
Características Morfológicas e Ciclos Biológicos dos Agentes Etiológicos • 10
Sintomatologia • 16
Métodos Morfológicos e Morfométricos
para o Diagnóstico da Hidatidose Humana • 17
Métodos Imunológicos para
Diagnóstico da Hidatidose Humana • 21
Obtenção, Conservação e Transporte de Soro Sanguíneo • 28
Biossegurança • 34
Referências • 37
Anexo A – Soluções para o diagnóstico • 41
Anexo B – Ficha de notificação para o imunodiagnóstico da hidatidose • 48
Anexo C – Formulário para envio de material biológico
          por transporte aéreo • 49
Anexo D – Normas de organização e funcionamento do Sistema
```

Nacional de Laboratórios de Saúde Pública – Sislab • 50

Anexo E – Relação dos Laboratórios Centrais de Saúde Pública – Lacen ● 53

Apresentação

Este Manual tem como objetivo fornecer aos técnicos de laboratório, de níveis médio e superior, e aos demais profissionais da Saúde informações relativas à obtenção, conservação, transporte, recebimento e manuseio de amostras biológicas utilizadas para investigação parasitológica e imunológica de doenças causadas por *Echinococcus*.

São destacadas as metodologias laboratoriais atualmente disponíveis para o diagnóstico da Hidatidose e itens básicos como biossegurança, mas de conhecimento necessário para o manuseio de material biológico. Essas metodologias contam com a utilização de soro sanguíneo e material biológico, obtidos nas cirurgias, para o diagnóstico diferencial de espécies da referida enfermidade.

Como o Serviço de Referência Nacional em Hidatidose – SRNH encontra-se em fase de estruturação, nossa intenção é que este manual seja utilizado pelos diversos profissionais dos serviços de saúde pública, principalmente dos Laboratórios Centrais de Saúde Pública – Lacen localizados nas capitais das unidades Federativas do Brasil.

O objetivo é orientar acerca dos procedimentos a serem realizados com o material coletado ou recebido pelos Lacens nas áreas endêmicas de Hidatidose. Busca-se a padronização com os protocolos de investigação do SRNH para que os resultados sejam obtidos com melhor qualidade e maior fidedignidade.

Introdução

As infecções parasitárias têm grande importância na avaliação da saúde pública em países em desenvolvimento como o Brasil, devido às suas altas prevalências. Como no País são encontradas áreas altamente desenvolvidas em contraste com outras bastante pobres, a prevalência e o espectro parasitário variam muito. Pode-se dizer que essa variação se deve a diversos fatores observados em diferentes áreas como as socioeconômicas, educacionais, sanitárias e ambientais.

A Hidatidose, infecção parasitária que acomete o homem e algumas espécies de animais, possui como agentes etiológicos helmintos da classe *Eucestoda*, do gênero *Echinococcus* (RUDOLPHI, 1801). A Organização Mundial da Saúde – OMS reconhece quatro espécies do gênero *Echinococcus*: *Echinococcus granulosus* (BATSCH, 1786); *Echinococcus multilocularis* (LEUCKART, 1863); *Echinococcus oligarthrus* (DIESING, 1863); e *Echinococcus vogeli* (RAUSCH; BERNSTEIN, 1972). Além dessas, a utilização de ferramentas moleculares permitiu a caracterização de outras espécies: *Echinococcus equinus* (WILLIAMS; SWEATMAN, 1963) e *Echinococcus ortleppi* (LOPEZ-NEYRA; SOLER PLANAS, 1943). Recentemente, uma nova espécie – *Echinococcus shiquicus* (XIAO et al., 2005) – foi descrita na China em raposas tibetanas. A importância epidemiológica de cada uma das espécies está diretamente relacionada à sua distribuição geográfica específica.

Na América do Sul, a Hidatidose é uma infecção parasitária de grande relevância tanto em animais quanto em humanos, considerando-se que a prevalência é maior do que em outras partes do mundo e que os prejuízos econômicos em função da sua morbidade geram grandes gastos com cirurgias e tratamentos médicos. Os casos de Hidatidose Humana por *E. granulosus* são muito mais comuns do que pelas outras espécies e ocorrem na Argentina, Bolívia, Chile, Colômbia, Equador, Peru, Uruguai, Venezuela e na região Sul do Brasil (Figura 1). A infecção ocorre,

preferencialmente, nas regiões com maior densidade de criação de gado. Pelo emprego de técnicas de biologia molecular, sabe-se da existência de variedades intraespecíficas (linhagens ou cepas) em *E. granulosus* no Rio Grande do Sul.

CHILL PARAGUAL

BOLIVIA

CHILL PARAGUA

GRANULOSUS

Figura 1- Distribuição geográfica da Hidatidose Humana por *Echinococcus* granulosus na América do Sul e no Brasil

Fonte: (ROMANI, 1995)

E. vogeli é um dos responsáveis pela forma policística da doença, também denominada Hidatidose Neotropical por ter ocorrência quase exclusiva em áreas tropicais. Os casos humanos ocorreram no Panamá, Colômbia, Equador, Venezuela e Peru. No Brasil, houve relato de casos nas regiões Norte, Centro-Oeste e Sudeste (Figura 2).

A infecção humana por *E. oligarthrus*, que também desenvolve uma larva policística, é rara no Brasil, visto que foram confirmados apenas dois casos. Os pacientes eram da região Norte.

vogen na America do sul e no Brasil

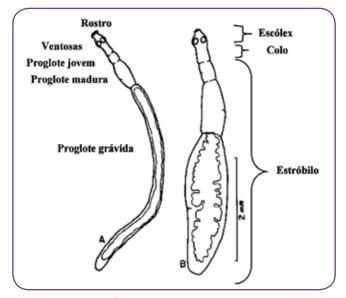
Figura 2 - Distribuição geográfica da Hidatidose Humana por *Echinococcus* vogeli na América do Sul e no Brasil

Fonte: (Adaptado de RODRIGUES-SILVA et al., 2002)

Características Morfológicas e Ciclos Biológicos dos Agentes Etiológicos

Os vermes adultos das espécies de *Echinococcus* medem de 3,9mm a 6,0mm, com o corpo dividido em escólex globoso, com quatro ventosas e um rostro armado de duas fileiras de ganchos; colo, ou região proglotogênica, delgado e curto; e estróbilo formado por três ou quatro proglotes, das quais apenas a última é denominada grávida, por conter o útero repleto de ovos (Figura 3).

Figura 3 - Desenho esquemático das espécies do gênero *Echinococcus* A) *Echinococcus vogeli*; B) *Echinococcus granulosus*



Fonte: (SERVIÇO DE REFERÊNCIA NACIONAL EM HIDATIDOSE, IOC, FIOCRUZ)

A forma larvária (cisto hidático, Figura 4), vulgarmente chamada de vesícula aquosa ou bolha d'água, apresenta-se como uma esfera cheia de líquido transparente.

Externamente, é composta pelas membranas adventícia, anista e germinativa. A membrana adventícia é uma reação tecidual do órgão parasitado à presença da larva. A membrana anista é constituída de escleroproteínas e funciona como uma barreira entre a adventícia e a germinativa. Esta, de natureza celular, é responsável por secretar o líquido hidático e de sua parede interna brotam as vesículas prolígeras com os protoescólices (Figura 4). Essas vesículas podem estar aderidas à parede por um pedículo ou se soltar e ficar livres no líquido hidático, compondo a areia hidática. O cisto hidático de *E. granulosus* é tipicamente unilocular, enquanto o de *E. vogeli* é policístico (proliferação endógena e exógena das vesículas).

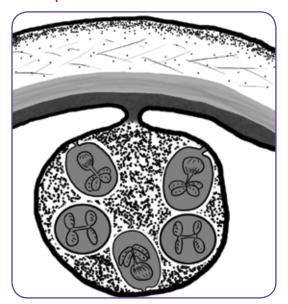


Figura 4 - Esquema do cisto hidático de Echinococcus sp.

Fonte: (ILUSTRAÇÃO DE BRUNO ESCHENAZI, SERVIÇO DE PRODUÇÃO E TRATAMENTO DE IMAGEM, IOC, FIOCRUZ)

As espécies mais comuns de *Echinococcus* no Brasil apresentam semelhanças e diferenças no ciclo biológico (Figuras 5 e 6). No ciclo biológico do *E. granulosus*, o

hospedeiro definitivo (o que tem o verme adulto) é o cão, tanto o que toma conta do gado quanto o cão doméstico, que se infecta ao se alimentar de vísceras dos bovinos (hospedeiro intermediário) contaminadas pelos cistos hidáticos.

Para *E. vogeli* (Figura 6), o hospedeiro definitivo é o cão selvagem (*Speothos venaticus*) (Figura 7) ou o cão doméstico, e o hospedeiro intermediário, a paca (*Cuniculus paca*) (Figura 8) ou a cutia (*Dasyprocta aguti*) (Figura 9). As vísceras da paca, caçada pelo homem, contendo cistos são normalmente desprezadas. O cão doméstico, por ser companheiro habitual de caçadores ou do povo da floresta, termina, habitualmente, por ingeri-las.

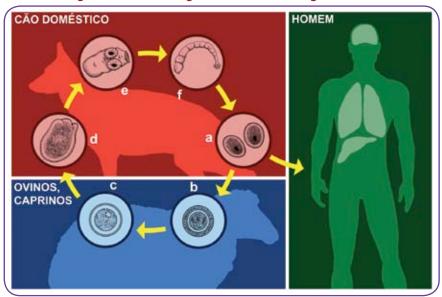


Figura 5 - Ciclo biológico de Echinococcus granulosus

Fonte: (ILUSTRAÇÃO DE BRUNO ESCHENAZI, SERVIÇO DE PRODUÇÃO E TRATAMENTO DE IMAGEM, IOC, FIOCRUZ)

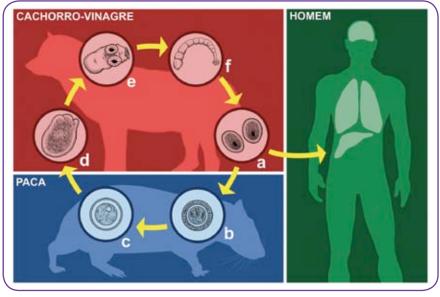


Figura 6 - Ciclo biológico de Echinococcus vogeli

Fonte: (ILUSTRAÇÃO DE BRUNO ESCHENAZI, SERVIÇO DE PRODUÇÃO E TRATAMENTO DE IMAGEM, IOC, FIOCRUZ)



Figura 7 - Speothos venaticus

Fonte: (SERVIÇO DE REFERÊNCIA NACIONAL EM HIDATIDOSE, IOC, FIOCRUZ)



Figura 8 - Cuniculus paca

Fonte: (SERVIÇO DE REFERÊNCIA NACIONAL EM HIDATIDOSE, IOC, FIOCRUZ)



Figura 9 - Dasyprocta aguti

Fonte: (SERVIÇO DE REFERÊNCIA NACIONAL EM HIDATIDOSE, IOC, FIOCRUZ).

Nos cães, as larvas se transformam em vermes adultos, que se fixam nas vilosidades do intestino delgado. As proglótides grávidas, contendo várias centenas de ovos, se rompem e os ovos são eliminados com as fezes do animal (Figura 10). Os ovos contendo a oncosfera (ou embrião hexacanto) são ingeridos

pelos hospedeiros intermediários, através do alimento contaminado. Quando a oncosfera é liberada no intestino delgado dos hospedeiros intermediários, ela atravessa as paredes do intestino, penetra nos vasos sanguíneos e linfáticos e se fixa em órgãos como fígado e pulmão, dando início à formação do cisto hidático.

O homem, que é hospedeiro acidental, só se contamina a partir do ambiente ou quando em contato direto com ovos do *Echinococcus*.

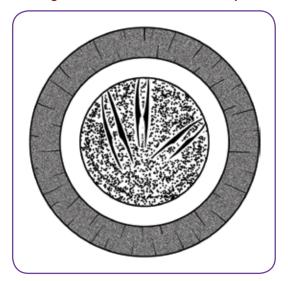


Figura 10 - Ovo de Echinococcus sp.

Fonte: (ILUSTRAÇÃO DE BRUNO ESCHENAZI, SERVIÇO DE PRODUÇÃO E TRATAMENTO DE IMAGEM, IOC, FIOCRUZ)

Sintomatologia

Em geral, as manifestações clínicas da hidatidose se relacionam com o estado físico do cisto, a integridade de suas membranas, a sua localização anatômica e seu tamanho. A apresentação clínica é derivada dos sinais de compressão de órgãos pelo grande volume que os cistos uniloculares podem atingir.

A hidatidose é uma parasitose cuja sintomatologia se manifesta tardiamente devido ao crescimento lento dos cistos. Enquanto estes forem pequenos, a infecção é assintomática. Geralmente, esse crescimento causa deformação nos órgãos e alterações em suas funções. Quando a localização é hepática, ocorre dor abdominal (à direita, junto às costelas), massas palpáveis, icterícia e hepatomegalia.

Em casos de localização pulmonar, a tosse, dor torácica, hemoptise e dispneia são os sintomas mais frequentes. Os casos de localização óssea produzem destruição das trabéculas, necrose e fratura espontânea. O prognóstico se agrava quando a localização do cisto ocorre em órgãos vitais como sistema nervoso, coração e rins. O rompimento do cisto hidático facilita a liberação de material antigênico, causando uma reação alérgica sistêmica, severa e rápida, que pode terminar em choque anafilático.

Na Hidatidose Policística Humana – HPH, os pacientes também permanecem assintomáticos até que os cistos atinjam um volume que produza compressão de estruturas dos órgãos afetados ou circunvizinhos, ou se tornem palpáveis. O fígado também é o órgão mais atingido, com frequente queixa de dor no hipocôndrio direito e icterícia. Os casos mais graves apresentam sinais de insuficiência hepática e, além da icterícia, apresentam hipoalbuminemia grave, levando à ascite e ao edema de membros inferiores.

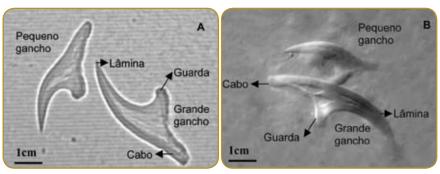
Os policistos pulmonares provocam sintomas ao comprimirem estruturas anatômicas ou fistulizarem para a árvore traqueobrônquica. As queixas mais comuns são dispneia, dor torácica, tosse e hemoptise. Os pacientes também podem informar a presença de massas abdominais. Na localização mesentérica, pode ocorrer massa palpável em qualquer quadrante abdominal, móvel ou fixa.

Métodos Morfológicos e Morfométricos para o Diagnóstico da Hidatidose Humana

A palavra morfometria é formada pelo radical grego *morphé*, que significa forma, associado ao radical grego *metrikós*, ou do latim *metricu*, que significa ato de medir ou processo de estabelecer dimensões. Embora o termo tenha aplicação ampla na ciência, o sentido em biomedicina, em última análise, seria a "atividade de medir estruturas anatômicas". Esse método tem por função tornar mais objetivas e precisas a coleta, a apresentação e a análise dos resultados obtidos em pesquisas e na rotina de laboratório, permitindo, ainda, relacionar as diferentes estruturas anatômicas com suas funções.

No protoescólex há dois tipos de ganchos: os da fileira superior, que são maiores (grandes ganchos) e possuem uma guarda arredondada e robusta; e os da fileira inferior, que são menores (pequenos ganchos) e com guarda achatada (Figura 11).

Figura 11 - Características do pequeno e do grande ganchos rostelares de *Echinococcus granulosus* (A) e *Echinococcus vogeli* (B), analisados por Contraste Interferencial de Normaski – DIC em microscopia de campo claro, sendo 1 cm = 0,005 mm



Fonte: (SERVIÇO DE REFERÊNCIA NACIONAL EM HIDATIDOSE, IOC, FIOCRUZ)

A identificação do *Echinococcus sp.* é realizada por meio das medidas dos ganchos rostelares (morfometria). Estes, normalmente encontrados livres no interior dos cistos, são formados por um cabo, uma guarda e uma lâmina, possuindo uma polpa central amorfa.

Os ganchos do *E. granulosus* têm comprimento de 19µm a 23µm; os de *E. oligarthrus*, de 26µm a 33µm; e os de *E. vogeli*, de 33µm a 41µm. Outro aspecto de importância refere-se à forma do gancho: os de *E. vogeli* têm a lâmina curva e mais longa que o cabo (dois terços do total).

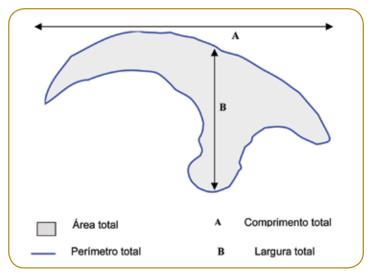
Procedimento para análise morfológica e morfométrica

- Aspirar, durante o procedimento cirúrgico, o líquido encontrado no interior das vesículas, o que deve ser feito com o auxílio de uma seringa.
- Estocar o material em frasco limpo, na proporção de uma parte do líquido para duas partes de álcool a 70% (Anexo I, 1.1), para preservação em temperatura ambiente.
- Colocar 1ml do material estocado em microtubos.
- Centrifugar a 1.000rpm (rotações por minuto) por cinco minutos.
- Desprezar o sobrenadante.
- Adicionar ao sedimento 1ml de álcool etílico absoluto (etanol a 100%).
- Centrifugar a 1.000rpm por cinco minutos.
- Desprezar o sobrenadante.
- Adicionar ao sedimento 1ml de salicilato de metila.
- Centrifugar a 1.000rpm por cinco minutos.
- Desprezar o sobrenadante.
- Adicionar ao sedimento 500µl de Bálsamo do Canadá e 500µl de salicilato de metila.
- Misturar até o concentrado ficar homogêneo (cerca de três minutos).
- Utilizar lâminas de tamanho 2,5cm X 7,5cm, emergidas em álcool comercial (92,8%), para limpeza e, posteriormente, secar com gaze.
- Rotular, em uma das extremidades da lâmina, as referências do material correspondente.

- Colocar o material processado na lâmina sobre uma superfície nivelada, com ajuda de uma pipeta, a fim de procurar, nesse sedimento, os protoescólices preservados (sem coloração).
- Pressionar levemente a lamínula sobre o material, a fim de que os ganchos possam ser espalhados e não danificados.
- Observação: ter atenção ao pressionar a lamínula sobre o material para que ela não se quebre e para que não haja derramamento do material a ser analisado.
- Fazer a análise morfométrica com o auxílio de uma ocular graduada; essa ocular possui uma régua e, quando colocada no microscópio, permite a realização de algumas medidas do material.
- Basear a morfometria nos seguintes caracteres: área, perímetro, largura e comprimento total dos grandes e pequenos ganchos (Figura 12).
- Calibrar previamente o equipamento para a análise morfométrica; essa calibração é feita por uma lâmina, que, na compra do microscópio, precisa ser adquirida. A primeira calibração é realizada pelo técnico que instala o microscópio. Ele ensina o procedimento ao responsável pelo equipamento no laboratório para sua realização, quando necessário.
- Manter apenas um único examinador como o responsável por processar o material, até o término da análise.
- Avaliar os dados por meio da análise estatística descritiva, na qual se calculam a média e o desvio padrão dos dados obtidos. Esses cálculos geralmente são feitos por programas de estatística para computadores existentes no mercado.

Observação: as lâminas de preparação permanente também podem ser analisadas em um microscópio de campo claro com uma câmara digital acoplada. As imagens obtidas poderão ser processadas por um programa de análise digital de imagens. Trata-se de um programa de computador que, quando calibrado, permite a realização de medidas do material estudado. Essas medidas são feitas por intermédio de um miniprograma (macro) previamente construído, informando ao computador quais as medidas relevantes que se quer estudar.

Figura 12 - Esquema dos caracteres analisados na morfometria dos ganchos rostelares de *Echinococcus granulosus*



Fonte: (adaptado de ALMEIDA et al., 2007)

Métodos Imunológicos para Diagnóstico da Hidatidose Humana

A necessidade do diagnóstico laboratorial para auxiliar na confirmação ou na formulação de um diagnóstico presuntivo da doença fez com que os métodos não morfológicos fossem precocemente desenvolvidos. A Hidatidose Humana é uma das poucas infecções parasitárias em que o diagnóstico laboratorial básico é principalmente o imunológico.

O imunodiagnóstico, baseado na detecção de anticorpos circulantes contra os antígenos do cisto hidático, é de grande importância no diagnóstico da Hidatidose e complementa o diagnóstico clínico em pacientes que apresentam manifestações ou imagens desse cisto. Quando, clinicamente, o paciente é encaminhado para cirurgia, o diagnóstico morfológico é realizado pelas medidas dos ganchos rostelares, por meio da coleta do líquido hidático (Figura 12).

Existem métodos sorológicos para o diagnóstico complementar da Hidatidose, quais sejam: *ensaio imunoenzimático – ELISA*, *Imunoblotting* e *reação em cadeia de polimerase – PCR*. Nos últimos anos, têm-se realizado grandes esforços na avaliação e padronização dos testes imunodiagnósticos e dos antígenos neles empregados.

Recentemente, está sendo utilizado o método de *Imunoblotting* para o imunodiagnóstico da hidatidose humana. O *Imunoblotting* permite observar a reação dos anticorpos presentes no soro de um paciente frente a proteínas antigênicas do líquido hidático. As proteínas são separadas por eletroforese e depois transferidas a uma membrana de nitrocelulose. A membrana é, então, incubada com o soro teste e, logo depois, com anticorpo de cabra anti-IgG humana, marcado com uma enzima. Se o soro possuir anticorpos, ao se agregar um substrato cromógeno adequado ocorrerá a formação de produto insolúvel, que precipita, formando bandas nas zonas de proteínas antigênicas.

Procedimento para teste imunológico

Etapa I

Separação das proteínas do antígeno por eletroforese em gel de poliacrilamida, contendo Dodecil Sulfato de Sódio (SDS-Page).

A separação das proteínas, componentes antigênicos, por SDS-Page é realizada empregando-se um sistema descontínuo em gel de separação e em gel de empacotamento. Deverá ser usado um sistema vertical apropriado para realizar a separação das proteínas.

Antígeno

O antígeno total do líquido hidático de ovino (ATLH-O), liofilizado, é ressuspendido em tampão Tris/HCl 0,05M; pH 8,0 (Anexo I, 2.1) em concentração de 50mg/ml e centrifugado a 12.000rpm, por uma hora, a 4°C. O sobrenadante é conservado abaixo de menos -20°C até o momento do uso.

Tratamento do antígeno

O ATLH-O é diluído, volume a volume, com uma solução de tratamento da amostra (Anexo I, 2.2). O antígeno é incubado a 100°C, por cinco minutos, em banho-maria. Logo após, é adicionado um corante marcador de corrida (Anexo I, 2.3) na proporção de 1µl por cada 30µl de amostra.

Preparação do gel de separação ou de corrida

Retirar da geladeira os reagentes para a preparação do gel (solução de poliacrilamida, tampão do gel de empacotamento, tampão do gel de separação, solução de persulfato de amônio a 10%, solução de dodecil sulfato de sódio a 10% e N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine – Temed), a fim de que eles atinjam a temperatura ambiente (Anexo I, 2.4 -2.8).

- Usar duas placas de vidro de 73mm de altura por 102mm de largura e 1mm de espessura, e dois espaçadores de plástico de 0,75mm de espessura.
- Observação: os volumes que foram descritos no anexo referem-se ao tamanho das placas mencionado acima.
- Limpar as placas de vidro com álcool e secá-las.
- Montar as placas, colocando os espaçadores entre elas.
- Fazer o teste com água destilada para confirmar se o sistema não está vazando.
- Preparar o gel na concentração de 15%, segundo o Anexo I 2.10., sempre deixando o Temed e o persulfato de amônia por último.
- Aplicar, com o auxílio de uma seringa, 3,5ml da solução do gel no espaço formado entre as placas e, imediatamente depois, completar com água destilada para formar uma superfície linear.
- Deixar polimerizar, à temperatura ambiente, por uma hora.

Aplicação do gel de empacotamento

- Eliminar a água destilada da parte superior do gel, secando bem com papel de filtro.
- Marcar a altura do gel inferior com caneta de marcador permanente.
- Preparar o gel de empacotamento segundo o Anexo I, 2.10.
- Colocar o gel de empacotamento sobre o gel de separação e, imediatamente depois, inserir o "pente", deixando um espaço entre sua base inferior e o gel de separação.
- Marcar os locais de aplicação com caneta de marcador permanente.
- Deixar polimerizar à temperatura ambiente, por 40 minutos.

Preparação da eletroforese

- Retirar o pente e lavar as cavidades com tampão Tris-Glicina-SDS (tampão de corrida) (Anexo I, 2.9).
- Aplicar, na cavidade do gel de empacotamento, 200µl de suspensão do antígeno.

- Observação: devido à presença de proteínas do hospedeiro, os lotes de antígeno deverão ser titulados, a fim de que se possa obter a diluição ideal.
- Colocar, após a aplicação do antígeno, o padrão de peso molecular pré-corado.
- Adicionar aproximadamente 200ml de tampão de corrida no recipiente superior e 300ml do mesmo tampão no recipiente inferior da cuba (sempre cobrindo o fio de condutividade) para iniciar a corrida eletroforética.
 Deixar agitando (magneto no interior) e observar se não está vazando.
- Observação: o tampão de corrida do recipiente superior não pode ser reutilizado. Já o tampão que é colocado no recipiente inferior da cuba pode ser reaproveitado por, no máximo, quatro vezes.

Corrida eletroforética

- Conectar os terminais elétricos da cuba na fonte de eletroforese, que é efetuada a 10mA por gel e 200V.
- Prestar atenção no corante marcador de corrida.
- Observação: quando o complexo SDS-proteínas entra uniformemente no gel de separação, ou de corrida, a corrente é aumentada para 20mA por gel.
- Desconectar o sistema quando o corante marcador de corrida alcançar a base do gel de separação.

Etapa II

Transferência de proteínas do gel de poliacrilamida para a membrana de nitrocelulose.

As proteínas são transferidas eletroforeticamente do gel para a membrana de nitrocelulose com poros de 0,22µm, em um recipiente de eletroforese.

Preparação da transferência

Em um recipiente contendo tampão de transferência (Anexo I, 3.1), o gel é
colocado sobre uma membrana de nitrocelulose, que, juntos, são acomodados
entre duas folhas de papel de filtro embebidas no mesmo tampão.

- O conjunto do gel membrana de nitrocelulose e papel de filtro é
 colocado entre duas esponjas de 3mm de espessura e posto em uma peça
 plástica com perfurações em ambos os lados.
- Em seguida, esse conjunto se encaixa em uma câmara de transferência, com o gel colocado para o lado do catodo e a membrana de nitrocelulose para o lado do anodo.

Observação: mergulhar as esponjas, os papéis de filtro e o papel de nitrocelulose em tampão de transferência em uma vasilha pelo menos 20 minutos antes de ser feita a transferência.

Eletrotransferência

- A eletrotransferência é efetuada a uma corrente de 133V e 397mA por hora, sendo que a cuba de gelo deverá ser trocada após 30 minutos do início da transferência, a fim de que a temperatura não ultrapasse 20°C.
- Finalizada a eletrotransferência, retirar a membrana de nitrocelulose e lavar com água destilada, por cinco minutos, sob agitação.
- Colocar a membrana de nitrocelulose em uma placa de Petri com a solução de Ponceau (Anexo I, 3.4).
- Depois de visualizar as bandas coradas pelo Ponceau, lavar a membrana de nitrocelulose com água destilada para descolorir, retirar o excesso de água, colocá-la sobre um papel de filtro na própria placa de Petri e deixar secar livre de poeira.

Etapa III

Reação Imunoenzimática

- Utilizar placas de plástico divididas em compartimentos.
- Molhar a membrana com água destilada e, com a ajuda de um bisturi e de uma lâmina, cortar tiras de aproximadamente 3mm de espessura, numerando-as na parte inferior.

- Colocar as tiras de nitrocelulose contendo o antígeno hidático nos compartimentos das placas.
- Lavar as tiras com TBS+Tween (TBS-T) (Anexo I, 4.1), a cada cinco minutos, totalizando três lavagens.
- Incubar as tiras com TBS-T contendo 5% de leite desnatado Molico (TBS-TL) (Anexo I, 4.2), por 30 minutos, à temperatura ambiente, sob agitação.
- Aspirar o conteúdo de cada canaleta.
- Lavar as tiras com TBS-T, a cada cinco minutos, totalizando três lavagens.
- Aspirar o conteúdo de cada canaleta e colocar os soros controle positivo e negativo e o soro teste na diluição de 1:100 em TBS-TL e incubar por uma hora.
- Observação: todos os soros que serão utilizados como controles positivos e negativos foram selecionados entre os arquivados no período de 1990-1996, no Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados IOC/Fiocruz, e hoje estão sob os cuidados da Soroteca do Serviço de Referência Nacional em Hidatidose. Os soros controle negativos são de indivíduos de área não endêmica para hidatidose e os soros controle positivos são de pacientes com exames de imagens, que já realizaram cirurgia para retirada do cisto e possuem exames parasitológicos positivos.
- Aspirar o conteúdo de cada canaleta.
- Lavar as tiras com TBS-T, a cada cinco minutos, totalizando três lavagens.
- Aspirar o conteúdo de cada canaleta.
- Adicionar a solução de anti-IgG humano marcado com fosfatase alcalina na diluição de 1:3.000 em TBS-TL e incubar por uma hora.
- Lavar as tiras com TBS-T, a cada cinco minutos, totalizando três lavagens.
- Passar as tiras de nitrocelulose para uma placa livre de detergente.
- Lavar uma vez com água destilada, por cinco minutos.
- Revelar a reação adicionando uma solução contendo NBT+BCIP diluído 1:100 no tampão substrato (Anexo I, 4.5).
- Esperar de cinco a oito minutos, verificando se a coloração do controle é positivo, e interromper a reação para aspirar o líquido.

- Lavar as fitas com água destilada por mais cinco minutos.
- Deixar secar as tiras, à temperatura ambiente, em local escuro.
- Observação: as alíquotas de soros controle, bem como de antígeno hidático, serão fornecidas pelo Serviço de Referência Nacional em Hidatidose, Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz, Rio de Janeiro-RJ.

Leitura e interpretação dos resultados

Consiste em visualizar, nas tiras de nitrocelulose, a presença ou ausência de bandas precipitadas. Em caso de presença das bandas, anotar suas respectivas massas relativas – Mr expressas em unidades de kilodaltons – kDa.

Divulgação dos resultados

O critério de positividade para o diagnóstico da hidatidose humana está condicionado ao reconhecimento de um ou mais peptídeos antigênicos de Mr entre 21 e 31kDa por anticorpos presentes no soro do paciente.

Obtenção, Conservação <u>e Transporte de Soro Sanguíneo</u>

Soro sanguíneo é o material solicitado para o exame imunológico da hidatidose humana, o qual se obtém do sangue venoso.

Condições para a coleta

O que é necessário para a coleta de sangue?

- sala bem iluminada e ventilada:
- pia;
- cadeira reta com braçadeira regulável ou maca;
- garrote;
- algodão hidrófilo;
- álcool iodado a 1% ou álcool etílico a 70%;
- agulha e seringa descartáveis ou sistema a vácuo: suporte, tubo e agulha descartáveis;
- pinça;
- etiquetas para identificação de amostras;
- lápis e/ou canetas de marcador permanente;
- recipiente de boca larga, com parede rígida e tampa, contendo hipoclorito de sódio a 2%;
- avental e máscara:
- luvas descartáveis;
- tubos de 5ml com tampa rosqueável e com borracha de vedação; e
- estantes para tubos.

O que deve ser feito antes da coleta da amostra de sangue?

Verifique se a ficha de notificação foi preenchida corretamente (Anexo II); identifique os tubos para colocação da amostra; e escreva na etiqueta os dados do paciente, tais como nome, número do registro, data de nascimento, sexo, data da coleta, número ou código de registro da amostra e o nome da instituição solicitante.

Coleta com seringa e agulha descartáveis

Como fazer coleta de sangue com seringa e agulha descartáveis?

- Coloque a agulha na seringa sem retirar a capa protetora. Não toque na parte inferior da agulha.
- Movimente o êmbolo e pressione-o para retirar o ar.
- Ajuste o garrote e escolha a veia.
- Faça a antissepsia do local da coleta com algodão umedecido em álcool a 70% ou álcool iodado a 1%. Não toque mais no local desinfetado.
- Retire a capa da agulha e faça a punção.
- Solte o garrote assim que o sangue começar a fluir na seringa.
- Colete aproximadamente 10ml de sangue. Em crianças, colete de 2ml a 5ml.
- Separe a agulha da seringa com o auxílio de uma pinça, descarte a agulha em recipiente de boca larga, paredes rígidas e tampa, contendo hipoclorito de sódio a 2%.
- Oriente o paciente a pressionar com algodão a parte puncionada, mantendo o braço estendido, sem dobrá-lo.
- Transfira o sangue para um tubo de ensaio sem anticoagulante, escorra delicadamente o sangue pela parede do tubo. Esse procedimento evita a hemólise da amostra; descarte a seringa no mesmo recipiente de descarte da agulha.

Coleta com sistema a vácuo

Como proceder quando a coleta é feita com sistema a vácuo?

- Rosqueie a agulha no adaptador (canhão). Não remova a capa protetora de plástico da agulha.
- Ajuste o garrote e escolha a veia.
- Faça a antissepsia do local da coleta com algodão umedecido em álcool a 70% ou álcool iodado a 1%. Não toque mais no local desinfetado.
- Remova o protetor plástico da agulha e faça a punção.
- Introduza o tubo no suporte, pressionando-o até o limite.
- Solte o garrote assim que o sangue começar a fluir no tubo.
- Separe a agulha do suporte com o auxílio de uma pinça. Descarte a agulha em recipiente de boca larga, paredes rígidas e tampa, contendo hipoclorito de sódio a 2%.
- Oriente o paciente a pressionar com algodão a parte puncionada, mantendo o braço estendido, sem dobrá-lo.

Material para preparar e armazenar o soro

Qual o material necessário para preparar e armazenar o soro?

- tubos de 5ml com tampa rosqueável e com borracha de vedação;
- pipeta Pasteur ou pipeta automática de 0,5ml a 1,0ml;
- etiquetas;
- caneta de marcador permanente;
- estante para tubos;
- centrífuga;
- refrigerador (4°C a 8°C);
- congelador (-20°C);
- avental e máscara:
- luvas descartáveis; e
- recipiente de boca larga, com parede rígida e tampa, contendo hipoclorito de sódio a 2%.

Separação e armazenamento de soro

Como proceder com a amostra de sangue coletada?

Deixe a amostra em temperatura ambiente até a retração do coágulo. A amostra pode ficar em temperatura ambiente por três horas, no máximo. Após este período o sangue pode hemolisar.

Como conservar a amostra antes da separação do soro?

Após a retração do coágulo, o material pode permanecer no refrigerador à temperatura de 4°C a 8°C, por 12 horas no máximo, a fim de evitar hemólise.

Como separar e armazenar o soro?

Após a retração do coágulo, pode-se separar o soro de duas maneiras: espontânea ou mecânica.

- 1. Separação espontânea
 - Aspire e transfira cuidadosamente o soro para um tubo limpo, previamente identificado; use uma pipeta Pasteur ou automática.
 - Cuidado: não toque o coágulo para que as células não se misturem com o soro.
 - Guarde no refrigerador por 72 horas, no máximo, ou em congelador a -20°C, até o envio ao laboratório.
- Separação mecânica
 - Centrifugue o sangue por 10 minutos, a 1.500rpm.
 - Retire o tubo, após a completa parada da centrífuga.
 - Aspire, transfira cuidadosamente e guarde o soro até o envio ao laboratório, conforme descrito na separação espontânea.

Acondicionamento das amostras para transporte

Qual o material necessário para o transporte de amostras?

- sacos plásticos;
- embalagem de envio de material biológico;

- gelo reciclável ou comum;
- fita adesiva; e
- etiqueta, envelope, caneta de marcador permanente e/ou lápis.

Quais os cuidados com o transporte de material biológico?

- Comunique o envio das amostras ao destinatário, com a data e o horário de chegada previstos.
- Acondicione as amostras na embalagem de envio de material biológico (Embalagem 650 – Substâncias Biológicas – Categoria B).
- A embalagem consistirá de três componentes: recipiente primário, embalagem secundária e embalagem externa rígida; os recipientes primários devem ser acondicionados em embalagens secundárias, de tal modo que, sob as condições normais de transporte, não possam ser quebrados, perfurados ou vazar o seu conteúdo para a embalagem secundária; embalagens secundárias devem ser acomodadas na embalagem externa, com material acolchoado apropriado; qualquer vazamento do conteúdo não poderá comprometer a integridade do material acolchoado ou a embalagem externa.
- As embalagens devem ser preparadas da seguinte forma:
 - a) O recipiente primário deve ser à prova de vazamento e não pode conter mais do que um litro.
 - b) A embalagem secundária deve ser à prova de vazamento.
 - c) Se vários recipientes primários frágeis forem colocados em uma única embalagem secundária, eles devem ser acondicionados individualmente ou separados, de forma a evitar que haja contato entre eles.
 - d) O material absorvente deve ser colocado entre o recipiente primário e a embalagem secundária; o material absorvente deve ser em quantidade suficiente para absorver o conteúdo dos recipientes primários, de forma que, havendo qualquer vazamento de substância líquida, esta não irá comprometer a integridade do material absorvente ou da embalagem externa.

- e) O recipiente primário, ou a embalagem secundária, deve ser capaz de absorver, sem vazamento, uma pressão interna de 95kPa, em uma variação de temperatura de -40°C a +55°C.
- Gelo ou gelo seco, quando usados, devem ser colocados do lado de fora da embalagem secundária, na embalagem externa. Suportes interiores devem ser providenciados para segurar a embalagem secundária na posição original, após a dissipação do gelo ou do gelo seco. No caso do uso de gelo comum, a embalagem externa deve ser à prova de vazamento. No caso do uso de gelo seco, a embalagem deve ser desenhada e construída de forma a permitir a liberação do gás dióxido de carbono, prevenindo a criação de uma pressão interna que possa romper a embalagem. O recipiente primário e a embalagem secundária devem manter sua integridade à temperatura do refrigerante usado, assim como às temperaturas e pressão resultantes, no caso da perda total ou em parte do material refrigerante.
- Cole, na parte externa, em local específico, uma etiqueta com o nome da instituição destinatária, endereço, nome do responsável pelo recebimento, nome da instituição remetente, endereço, telefone, fax, horário de envio e validade da embalagem. É imprescindível o envio da *Declaração de Carga Perigosa* (Anexo III).

Biossegurança

Biossegurança é um conjunto de medidas preventivas destinadas a proteger a saúde e a segurança das pessoas, durante seu trabalho, nos laboratórios onde são manipulados materiais biológicos. Sendo assim, para cuidar de sua segurança, da segurança de seus colegas de trabalho e do meio ambiente, obedeça aos procedimentos básicos de biossegurança em laboratórios.

Atenção!

- Todo cuidado é pouco na manipulação de materiais biológicos, tais como soro, sangue ou secreções, fluidos orgânicos, tecidos etc. Redobre suas precauções, pois esses materiais são potencialmente infectantes e muitas vezes estão contaminados com agentes etiológicos diferentes daqueles que estão sendo pesquisados, ou ainda desconhecidos. Nunca pipete com a boca e jamais cheire placas de cultura.
- A inativação do soro em banho-maria, a 56°C, por 30 minutos, não elimina o potencial infectante da amostra.
- Use sempre equipamento de proteção individual EPI: avental ou jaleco longo, de mangas compridas e punho retrátil, luvas descartáveis, óculos de proteção, pipetadores manuais ou automáticos e, quando for o caso, protetor facial.
- Evite a formação e dispersão de aerossóis. Aerossóis são micropartículas sólidas e líquidas com dimensões aproximadas entre 0,1 e 50 micra que podem, caso contenham micro-organismos, permanecer em suspensão e plenamente viáveis por várias horas. A pipetagem, flambagem de alças, abertura de frascos e ampolas, manipulação de seringas, agulhas, lancetas, lâminas e outros assemelhados podem gerar e propagar aerossóis.

- Jamais reencape agulhas. Esse procedimento é uma das principais causas da contaminação de profissionais de saúde por micro-organismos existentes no sangue e em outros fluidos orgânicos, como o vírus da hepatite B e o HIV. Após a coleta, deve-se descartar esse material diretamente em recipiente de paredes rígidas com tampa, contendo hipoclorito de sódio a 2%, em volume superior à metade do recipiente.
- Reduza ao máximo o manuseio de resíduos, em especial os perfurocortantes.
 Descarte o rejeito perfurocortante diretamente em recipiente de paredes rígidas, contendo hipoclorito de sódio a 2%. Deixe em imersão total por, no mínimo, 24 horas e, em seguida, faça a autoclavação desse material.
- Identifique e sinalize os principais riscos presentes em seu laboratório.
 Produtos e áreas que oferecem risco devem ser marcados com os devidos símbolos internacionais em etiquetas autoadesivas padrão.
- Verifique sempre as condições de funcionamento dos equipamentos de proteção coletiva – EPC: extintores de incêndio, chuveiros de segurança, lava-olhos, pia para lavagem de mãos, caixa de areia e cabine de segurança biológica (classe II).
- Para descontaminação pessoal, de equipamentos e de superfícies fixas, utilize desinfetantes eficientes e adequados. Use sempre produtos registrados no Ministério da Saúde. Não existe um desinfetante único que atenda a todas as necessidades. É fundamental conhecer os diversos agentes químicos e sua compatibilidade de uso para evitar custos excessivos e utilização inadequada.
- Tenha muito cuidado com a manipulação e a estocagem de substâncias químicas. Leia com atenção as informações contidas nos rótulos.

Seja sempre consciente da importância de suas ações na preservação da biossegurança em seu local de trabalho.

- Lave as mãos antes e depois de qualquer procedimento laboratorial.
- Nunca pipete com a boca.
- Dentro do laboratório, não fume, não coma, não beba, não prepare refeições.
- Quando estiver usando luvas, não manuseie objetos de uso comum, como telefones, maçanetas de portas e janelas, jornais, revistas etc.
- Não guarde alimentos ou bebidas em geladeiras e congeladores para armazenagem de material biológico.
- Vacine-se rotineiramente contra a hepatite B.

Seguindo essas recomendações, você estará contribuindo para a diminuição de acidentes. Se acontecer um acidente de trabalho em seu laboratório, notifique imediatamente a sua chefia.

Referências

ALMEIDA, F.B et al. Intraspecifc variation of *Echinococcus granulosus* in livestock from Peru. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 143, p. 50-58, 2007.

BOURÉE, P. Hydatidosis: dynamics of transmission. **World Journal of Surgery**, New York, v. 25, p. 4-9, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Técnicas para coleta de sangue**. Brasília, 2001. 53 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Biossegurança em laboratórios biomédico e de microbiologia**. Brasília, 2004. 290 p.

D'ALESSANDRO, A. Polycystic echinococcosis in tropical America: *Echinococcus vogeli* and *E. oligarthrus*. **Acta Tropica**, Basel, v. 67, p. 43, 1997.

D'ALESSANDRO, A. et al. *Echinococcus vogeli* in man, with a review of polycystic hydatid disease in Colombia and neighboring countries. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Mclean, v. 28, p. 303-317, 1979.

FICHBACH, F. **Exames laboratoriais e diagnósticos**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002. 504 p.

GARCIA, H.H.; MORO, P.L.; SCHANTZ, P.M. Zoonotic helminth infections of humans: echinococcosis, cysticercosis and fascioliasis. **Current Opinion in Infectious Diseases**, Philadelphia, v. 20, p. 489-494, 2007.

CRAIG, P. Current research in echinococcosis. **Parasitology Today**, Amsterdam, v. 10, p. 209-211, 1994.

GUARNERA, E.A. et al. A. Cystic echinococcosis in Argentina: evolution of metacestode and clinical expression in various *Echinococcus granulosus* strains. **Acta Tropica**, Basel, v. 92, p. 153-159, 2004.

HIRATA, M.H.; MANCINI-FILHO, J. **Manual de biossegurança**. São Paulo: Manole, 2002. 512 p.

HOBBS, R.P.; LYMBERY, A.J.; THOMPSON, R.C. Rostellar hook morphology of *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) from natural and experimental Australian hosts, and its implications for strain recognition. **Parasitology**, Cambridge, v. 101, p. 273-281, 1990.

KAMENETZKY, L. et al. High polymorphism in genes encoding antigen B from human infecting strains of *Echinococcus granulosus*. **Parasitology**, Cambridge, v. 131, p. 805-815, 2005.

LIMA, O. **Métodos de laboratório aplicados à clínica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 600 p.

LYMBERY, A.J. Combining data from morphological traits and genetic markers to determine transmission cycles in the tapeworm, *Echinococcus granulosus*. **Parasitology**, Cambridge, v. 117, p. 185-192, 1998.

MORO, P.; SCHANTZ, P.M. Cystic echinococcosis in the Americas. **Parasitology Internacional,** Tokyo, v. 55, S181-S186, 2006. Suplemento.

PAGANA, K.D.; PAGANA, T.J. **Manual de testes diagnósticos laboratoriais**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001. 541 p.

PERU. Ministerio de Salud. **Manual de procedimientos tecnicos para el diagnostico serologico de la hidatidosis humana**. Peru: Instituto Nacional de Salud, 1997. 64 p.

RAUSCH, R.L.; BERNSTEIN, J.J. Echinococcus vogeli sp. n (Cestoda: Taeniidae) from the bush dog, Speothos venaticus (Lund). Zeitschrift fur Tropenmedizin und Parasitologie, Stuttgart, v. 23, p. 25-34, 1972.

RAUSCH, R. L.; D'ALESSANDRO, A. Histogenesis in the metacestode of *Echinococcus vogeli* and mechanism of pathogenesis in polycystic hydatid disease. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 85, p. 410-418, 1999.

RAUSCH, R.L.; D'ALESSANDRO, A.; RAUSH, V.R. Características de la larva de *Echinococcus vogeli* Raush y Bersnstein, 1972 em el huésped intermediário natural, la guagua *Cuniculus paca L.* (Rodentia: Dasyproctidae). **Colombia Médica**, Cali, v. 12, p. 167-175, 1981.

RAUSCH, R.L.; RAUSH, V. R.; D'ALESSANDRO, A. Discrimination of larval stages of *Echinococcus oligarthrus* (Diesing, 1863) and *Echinococcus vogeli* Rausch and Bernstein, 1972 (*Cestoda: Taeniidae*). **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Mclean, v. 27, p. 1195-1202, 1978.

REY, L. Dicionário de termos técnicos de medicina e saúde. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2003. 950 p.

RODRIGUES-SILVA, R. et al. An autochthonous case of *Echinococcus vogeli* Raush & Bernstein, 1972 polycystic echinococcosis in the state of Rondônia, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, p. 123-126, 2002.

ROMANI, E.L.S. **Determinação de antígenos relevantes da forma larvar do Echinococcus granulosus**: padronização e aplicação do "Immunoblot" no diagnóstico da hidatidose humana. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária) – Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, 1995.

RORATTO, P.A. et al. Detection of genetic polymorphism among and within *Echinococcus granulosus* strains by heteroduplex analysis of a microsatellite from the U1 snRNA genes. **Genetics and Molecular Research** (online), Ribeirão Preto, v. 30, p. 542-552, 2006.

RUE, M. L. DE LA et al. New data on *Echinococcus spp.* in Southern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 48, p. 103-104, 2006.

SARAIVA, P. J. Hidatidose. In: FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S. L. M. **Diagnóstico laboratorial**: avaliação de métodos de diagnóstico das principais doenças infecciosas e parasitárias e auto-imunes. Correlação clínico-laboratorial. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001. p. 443.

SIQUEIRA, N.G et al. Successful outcome of hepatic polycystic echinococcosis managed with surgery and chemotherapy. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 101, p. 624-626, 2007.

SOARES, M.C. et al. Polycystic echinococcosis in the Eastern Brazilian Amazon: an update. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 2, p. 75-83, 2004. Suplemento.

TAPPE, D.; STICH, A.; FROSCH, M. Emergence of polycystic neotropical echinococcosis. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 14, p. 292-297, 2008.

THOMPSON, R.C.A.; MCMANUS, D.P. Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus*. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 18, p. 452-457, 2002.

XIAO, N. et al. *Echinococcus shiquicus n. sp.*, a *taeniid cestode* from Tibetan fox and plateau pika in China. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 35, p. 693-701, 2005.

Anexo A

Soluções para o diagnóstico

1. Preparação de soluções para análise morfológica
1.1. Solução de álcool 70%
2. Preparação de tampões e soluções para análise imunológica
2.1 Tampão Tris/HCl 0,05M, pH 8,0
Tris 0,05M
2.2 Solução de tratamento da amostra
Tampão do gel de empacotamento
H ₂ O destilada5,0ml

2.3 Solução do corante marcador de corrida

Azul de bromofenol0,05g
Glicerol8ml
Tampão Tris (0,5M pH 8,0)1ml
$\mathrm{H_{2}O}$ destilada
Misturar o corante com a água no vórtex (equipamento
utilizado para homogeneizar soluções). Adicionar o tampão
Tris ainda no vórtex. Adicionar o glicerol e deixar dissolvendo
sob agitação branda por aproximadamente três horas. Fazer
alíquotas e estocar no freezer.

2.4 Solução de poliacrilamida (30%T Acrilamida/2,7%C BIS - Acrilamida)

Acrilamida	14,6g
N-N-bis acrilamida	0,4g
H ₂ O destilada50m	ıl qsp
Pesar em tubo Falcon, dissolver em banho-maria, es	perar
esfriar e completar o volume. Embrulhar o tubo Falco	n em
papel alumínio e estocar a 4°C. Sempre manter este rea	gente
no escuro.	

2.5 Tampão do gel de empacotamento 0,5M, pH 6,8

Tris (0,05M)	6,0g
H ₂ O destilada	00ml qsp
Ajustar o pH com HCl concentrado para 6,8.	

2.6 Tampão do gel de separação ou de corrida 1,5M, pH 8,8

Tris (1,5M)	18,15g
H ₂ O destilada	100ml qsp
Ajustar o pH com HCl concentrado para 8,8.	

2.7 Solução de persulfato de amônio - APS a 10%

Persulfato de amônio	1g
H ₂ O destilada	10ml
Fazer alíquotas e estocar no freezer.	

2.8 Solução de dodecil sulfato de sódio - SDS a 10%

SDS
H ₂ O destilada10ml
Pesar em tubo Falcon, dissolver em banho-maria e estocar a 4°C.

2.9 Tampão de corrida (pH 8,3)

Tris 0,025M	3,0g
Glicina 0,192M	14,4g
SDS 10%	10ml
H ₂ O destilada	1.000ml qsp
Ajustar pH com HCl para 8,3.	

2.10 Fórmula de concentração dos géis de empacotamento e de separação a 15%

Fórmula para Gel do SDS-PAGE

	Gel separação 15%	Gel empacotamento 4%
Acrilamida 30% T/2,7%C	6,0ml	1,33ml
Tampão gel inferior ou de separação	4,5ml	
Tampão gel superior ou de empacotamento		2,5ml
SDS 10%	120ml	100ml
Água deionizada	1,5ml	6,1ml
Temed	4ml	10ml
Persulfato de Amônio	60ml	100ml

2.11 Corante para o gel (Coomasie blue) – solução estoque

Coomassie blue R250 (1%)1g
H ₂ O destilada100ml qsp
Dissolver e filtrar em papel de filtro Whaterman 1.

2.12 Corante de uso para o gel (Coomasie blue)

Solução estoque	12,5ml
Metanol	50ml
Ácido acético glacial	10ml
H ₂ O destilada	100ml qsp
Mergulhar o gel depois da corrida nessa sol	ução por 24 horas.
A solução pode ser reaproveitada.	

2.13 Descorante de uso para o gel (Coomasie blue)

Solução A:

Metanol (50%)	50ml
Ácido acético glacial (10%)	10ml
H ₂ O destilada	100ml
Adicionar aos poucos, por 30 minutos.	

Solução B:

Metanol (5%)5ml
Ácido acético glacial (7%)7ml
H ₂ O destilada100ml
Adicionar aos poucos, realizando três trocas a cada 15
ninutos. Depois, colocar em cuba com água destilada
ampada. Esta solução não pode ser reaproveitada.

2.14 Solução de secagem do gel

Metanol (50%)	50ml
Glicerol (0,5%)	50μl
H ₂ O destilada	100ml qsp
Deixar as folhas (duas) de papel celof	ane e o gel por 20
minutos sob agitação constante na so	olução de secagem.
Depois colocar uma folha, o gel e a outr	a folha sob placa de
vidro. Tirar as bolhas e deixar secar.	

3. Preparação de tampões e soluções para a transferência

3.1 Tampão de transferência

Tris 0,025M	3g
Glicina 0,192M	14,4g
Metanol 10%	200ml
H ₂ O destilada	1.000ml qsp

3.2 Tampão Fosfato Salino – PBS

A-Monobásico

NaH ₂ PO ₄	0,2M	27,598g
H ₂ O destilada		1.000ml qsp
Estocar no freezer.		

B-Dibásico

Na ₂ HPO ₄	0,2M	53,614g
H ₂ O destilada		1.000ml qsp
Estocar no freezer.		
Estocai no freezer.		

Misturar 14ml da solução A + 36ml da solução B + 8,75g de NaCl e completar o volume para 1.000ml com H₂O destilada.

3.3 TBS 8X

Tris 0,02M	4,84g
NaCl 0,5M	58,48g
H ₂ O destilada	250ml qsp
Conservar em freezer. O pH deve ser	medido e ajustado para
7,5 (com HCl) na hora do preparo da	solução diluída.

3.4 Preparação do Ponceau

Ponceau (50,1%)	0,1g
Ácido acético (5%)	5ml
H ₂ O destilada	100ml

4. Preparação de soluções para reação imunoenzimática

4.1 TBS-T

TBS 8X	13,8ml
H ₂ O destilada	110ml qsp
Tween 20	220µl
O pH da solução deve ser ajustado	antes do acréscimo do
Tween 20.	

4.2 TBS-TL

TBS-T pH 7,5	2ml
Leite molico	,10g

- 4.3 Conjugado anti-IgG humano diluído a 1:3.000 em TBS-TL
- 4.4 Soros controle negativo e positivo e soro teste diluídos a 1:100 em TBS-TL

4.5 Solução reveladora

4.5.1. Cloreto de Magnésio 0,1M

Cloreto de Magnésio	2,013g
H ₂ O destilada	•
Azida sódica	0,01%

4.5.2 Tampão substrato

Tris	3g
Cloreto de Magnésio 0,1M	12,5ml
H ₂ O destilada	250ml qsp

4.5.3 NBT (Nitro-Blue Tetrazolium Chloride) – BCIP (5-Bromo-4-Chloro-3'-Indolyphosphate p-Toluidine Salt)

Solução de NBT/BCIP de fonte comercial. O reagente final deve ser preparado de acordo com as recomendações do fabricante.

Observação: tudo tem que ser de vidro e livre de detergente. Armazenar o NBT/BCIP protegido da luz e em geladeira.

4.5.4 Revelação

Tampão substrato	8ml
NBT	80µl
BCIP	80µl

Anexo B

Ficha de notificação para o imunodiagnóstico da hidatidose

Dados cadastrais
Nome: Sexo:
Data de Nascimento:// Município: UF:
Profissão ou atividade principal:
Endereço:
Fone: UF:
Zona: () Urbana () Rural
Dados do caso
Possui căes: () sim () não Quantos:
Abate ovino ou bovino: () sim () não
Pratica caça: () sim () não Qual:
Destino dado às vísceras: () dá crua para os cães () cozinha para os cães
() enterra () alimento para suínos () outro:
Sintomas e sinais
Sintomas:
Diagnóstico clínico:
Diagnóstico por imagem:
Caso de hidatidose na família: () sim () não
Sorologia HIV: () positiva () negativa () não realizada
Material enviado: () soro Data da coleta://
() 1 ^a amostra () controle
Sorologia anterior: () positiva () negativa () não realizad
Responsável pela investigação
Nome do requisitante:
Função: Fone para contato:
Município: CRS:
Data:/ Assinatura:

Anexo C

Formulário para envio de material biológico por transporte aéreo

Shipper	Air Waybill No.
	Page of Pages Shipper's Reference Number (spiloral)
Consignee	For optional use for Company logo name and address
Two completed and signed copies of this Declaration must be handed to the operator.	WARNING
TRANSPORT DETAILS This shipment is within the limitations prescribed for: (delete non-applicable) PASSINHARIT CARGO AND CARG	Failure to comply in all respects with the applicable Dangerous Goods Regulations may be in breach or the applicable law, subject to legal penalties.
Airport of Destination:	Shipment type: (delete non-applicable) [NON-RADIOACTIVE RADIOACTIVE]
group (if required), and all other required information.	
group (if required), and all other required information.	
group (if required), and all other required information.	

Anexo D

Normas da organização e funcionamento do Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública – Sislab

A Portaria nº 1.172, de 15 de junho de 2004, do Ministério da Saúde – MS, que substitui a Portaria nº 1.399/99, regulamenta a NOB SUS 1/96 no que se refere às competências da União, dos estados, municípios e do Distrito Federal na área de Vigilância em Saúde, define a sistemática de financiamento e dá outras providências.

A Portaria MS nº 2.031, de 23 de setembro de 2004, dispõe sobre a organização do Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública – Sislab.

O Sislab é um conjunto de redes nacionais de laboratórios, organizado em sub-redes, por agravos ou programas, de forma hierarquizada por grau de complexidade das atividades relacionadas à Vigilância em Saúde, compreendendo a Vigilância Epidemiológica, Vigilância Ambiental em Saúde, Vigilância Sanitária e Assistência Médica.

É, portanto, constituído pelas seguintes redes nacionais de laboratórios:

- Rede Nacional de Laboratórios de Vigilância Epidemiológica;
- Rede Nacional de Laboratórios de Vigilância Ambiental em Saúde;
- Rede Nacional de Laboratórios de Vigilância Sanitária; e
- Rede Nacional de Laboratórios de Assistência Médica de Alta Complexidade.

As sub-redes são estruturadas, observadas suas especificidades, de acordo com a seguinte classificação de unidades laboratoriais:

- Centros Colaboradores CC;
- Laboratório de Referência Nacional LRN;
- Laboratório de Referência Regional LRR;
- Laboratório de Referência Estadual LRE;

- Laboratório de Referência Municipal LRM;
- Laboratórios Locais LL; e
- Laboratórios de Fronteira LF.

Em um país continental como o Brasil, essa estruturação é fundamental para que as ações e os serviços laboratoriais executados pelos laboratórios de saúde pública sejam abrangentes, organizados, racionais e em consonância com os princípios do SUS.

As competências dessas unidades laboratoriais estão estabelecidas na Portaria nº 2.031/2004, anteriormente citada.

Os laboratórios de referência regional são unidades laboratoriais capacitadas a desenvolver atividades mais complexas, organizadas por agravos ou programas, que prestam apoio técnico-operacional àquelas unidades definidas para sua área geográfica de abrangência.

Essas duas unidades laboratoriais são oficialmente definidas pelo MS.

Os laboratórios de referência estadual são os Laboratórios Centrais de Saúde Pública – Lacen, vinculados às secretarias estaduais de saúde, com área geográfica de abrangência estadual.

Os laboratórios de referência municipal são unidades laboratoriais vinculadas às secretarias municipais de saúde, com área geográfica de abrangência estadual.

Os laboratórios locais são unidades laboratoriais que integram a rede estadual ou municipal de laboratórios de saúde pública.

Os laboratórios de fronteira são unidades laboratoriais localizadas em regiões limítrofes do País.

No Capítulo III da Portaria nº 2.031/2004 é definida a gestão do sistema. As Redes Nacionais de Laboratórios de Vigilância Epidemiológica e Ambiental em Saúde têm como gestora nacional a Secretaria de Vigilância em Saúde, do Ministério da Saúde.

Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública - CGLAB

A Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública, vinculada à Secretaria de Vigilância em Saúde, é responsável por coordenar, normalizar e supervisionar as atividades técnicas das Redes Nacionais de Laboratórios de Vigilância Epidemiológica e Ambiental em Saúde. A CGLAB tem como metas promover, coordenar, apoiar e fomentar ações, objetivando a melhoria contínua dos serviços prestados por essas redes. Nesse sentido, a elaboração de manuais técnicos com a definição das metodologias, das orientações e dos procedimentos que devem ser seguidos pelos laboratórios é de grande importância para a confiabilidade e a qualidade dos resultados e dos trabalhos por eles gerados, já que estes têm implicações clínicoterapêuticas e epidemiológicas para o paciente e para a sociedade.

Anexo E

Relação dos Laboratórios Centrais de Saúde Pública – Lacen

Acre

Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Djalma da Cunha Batista

Av. Getúlio Vargas, Travessa do Hemoacre, s/n

CEP: 69900-614, Rio Branco-AC

Tel.: (68) 3228-2720 Fax: (68) 3228-2720

E-mail: lacen.saude@acre.gov.br

Alagoas

Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Aristeu Lopes

Av. Marechal Castelo Branco, 1.773, Jatiúca

CEP: 57036-340, Maceió-AL Tel.: (82) 3315-2702/2701

Fax: (82) 3315-2722

 $E\text{-}mail: coordenação@lacen.com.br / telma@lacen.com.br}$

Amapá

Laboratório Central de Saúde Pública Prof. Reinaldo Damasceno

Rua Trancredo Neves, 1.118, São Lázaro

CEP: 68900-010, Macapá-AP Tel.: (96) 3212-6175/6165/6115

Fax: (96) 3212-6115

E-mail: diretoria@lacen.ap.gov.br

Amazonas

Laboratório Central de Saúde Pública

Rua Emílio Moreira, 510, Centro

CEP: 69020-040, Manaus-AM

Tel.: (92) 3622-2819/2129-4000

Fax: (92) 2129-4000

E-mail: lacenam@bol.com.br

Bahia

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública Prof. Gonçalo Moniz

Endereço: Rua Waldemar Falcão, 123, Brotas

CEP: 40295-001, Salvador-BA

Tel.: (71) 3376-1414/2299

Fax: (71) 3356-0139

E-mail: lacen.diretoria@saude.ba.gov.br

Ceará

Laboratório Central de Saúde Pública

Av. Barão de Studart, 2.405, Aldeota

CEP: 60120-002, Fortaleza-CE

Tel.: (85) 3101-1472/1491

Fax: (85) 3101-1485

E-mail: ricardo@saude.ce.gov.br

Distrito Federal

Laboratório Central de Saúde Pública

SGAN, quadra 601, lotes O e P

CEP: 70830-010, Brasília-DF

Tel.: (61) 3325-5288/3316-9808 (Centro de Controle de Zoonoses)

Fax: (61) 3321-9995 / 3326-5769 E-mail: gablacen@saude.df.gov.br

Espírito Santo

Laboratório Central de Saúde Pública

Av. Marechal Mascarenhas de Moraes, 2.025, Bento Ferreira

CEP: 29052-121, Vitória-ES

Tel.: (27) 3382-5046 Fax: (27) 3137-2404

E-mail: lacen@saude.es.gob.br

Goiás

Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros

Av. Contorno, 3.556, Jardim Bela Vista

CEP: 74853-120, Goiânia-GO

Tel.: (62) 3201-8890/3888

Fax: (62) 3201-3888

E-mail: lacen@saude.go.gov.br / lacen.dirgeral@saude.go.gov.br

Maranhão

Laboratório Central de Saúde Pública - Instituto Oswaldo Cruz

Rua Afonso Pena, 198, Centro CEP: 65010-030, São Luis-MA

Tel.: (98) 3232-3410/5356

Fax: (98) 3232-3410 ramais: 239 ou 237

E-mail: lacen@lacen.ma.gov.br

Mato Grosso

Laboratório Central de Saúde Pública Rua Thogo da Silva Pereira, 63, Centro

CEP: 78020-500, Cuiabá-MT

Tel.: (65) 3623-6404/3624-6095

Fax: (65) 3613-2697

E-mail: dirlacen@saude.mt.gov.br

Mato Grosso do Sul

Laboratório Central de Saúde Pública

Av. Senador Felinto Muller, 1.666, Ipiranga

CEP: 79074-460, Campo Grande-MS

Tel.: (67) 3345-1300/3346-4871

Fax: (67) 3345-1320

E-mail: lacendiretoria@net.ms.gov.br

Minas Gerais

Instituto Octávio Magalhães/Fundação Ezequiel Dias

Rua Conde Pereira Carneiro, 80, Gameleira

CEP: 30510-010, Belo Horizonte-MG

Tel.: (31) 3371-9472/9461/9478

Fax: (31) 3371-9480/9478/9444

E-mail: iomlacen@funed.mg.gov.br

Pará

Laboratório Central de Saúde Pública Rodovia Augusto Montenegro, km 10

CEP: 66823-060, Belém-PA

Tel.: (91) 3248-8299/1766

E-mail: lacen@sespa.pa.gov.br

Paraíba

Laboratório Central de Saúde Pública

Av. Cruz das Armas, s/n, Cruz das Armas

CEP: 58085-000, João Pessoa-PB

Tel.: (83) 3218-5926/5922

Fax: (83) 3218-5923

E-mail: lacenpb@ig.com.br

Paraná

Laboratório Central do Estado

Rua Sebastiana Santana Fraga, 1.001, Guatupê

CEP: 83060-500, São José dos Pinhais-PR

Tel.: (41) 3299-3200/3218/3219

Fax: (41) 3299-3204

E-mail: lacen@pr.gov.br / diretorialacen@sesa.pr.gov.br

Pernambuco

Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Milton Bezerra Sobral

Laboratório de Endemias - Labend

Av. Conde da Boa Vista, 1.570, Boa Vista

CEP: 50060-001, Recife-PE

Tel.: (81) 3412-6416/6417

Fax: (81) 3412-6333

E-mail: lacen@saude.pe.gov.br

Piauí

Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Costa Alvarenga

Rua Dezenove de novembro, 1.945, Primavera

CEP: 64002-570, Terezina-PI

Tel.: (86) 3223-2484/3221-3551

Fax: (86) 3216-3651

E-mail: lacempi@veloxmail.com.br

Rio de Janeiro

Laboratório Central de Saúde Pública Noel Nutels

Rua do Resende, 118, Fátima

CEP: 20231-092, Rio de Janeiro-RJ

Tel.: (21) 2252-4000

Telefax: (21) 2232-5767/2470

E-mail: dptnnutels@saude.rj.gov.br

Rio Grande do Norte

Laboratório Central de Saúde Pública

Rua Cônego Monte, s/n, Quintas

CEP: 59037-170, Nata-RN

Tel.: (84) 3232-6191

Fax: (84) 3232-6195

E-mail: lacen@rn.ig.com.br / lacenrn@yahoo.com.br

Rio Grande do Sul

Laboratório Central do Estado

Av. Ipiranga, 5.400, Jardim Botânico

CEP: 90610-000, Porto Alegre-RS

Tel.: (51) 3288-4035/3352-0416

Fax: (51) 3288-4053

E-mail: lacen@fepps.rs.gov.br

Rondônia

Laboratório Central de Saúde Pública

Rua Anita Garibaldi, 4.130, Costa e Silva

CEP: 78903-770, Porto Velho-RO

Tel.: (69) 3216-5305/5300/5301/5302

Fax: (69) 3216-6149/6106 ou 3223-4890 ou 2339-6566

E-mail: direcao@lacen.ro.gov.br

Roraima

Laboratório Central de Saúde Pública

Av. Brigadeiro Eduardo Gomes, s/n, Novo Planalto

CEP: 69305-650, Boa Vista-RR

Tel.: (95) 3623-2996/1982/1221

Fax: (95) 3223-1976/1294 (Secretaria de Saúde)

E-mail: lacen@saude.rr.gov.br

São Paulo

Instituto Adolf Lutz

Av. Dr. Arnaldo, 355, Cerqueira César

CEP: 01246-902, São Paulo-SP

Tel.: (11) 3068-2800/2802

Fax: (11) 3085-3505/3088-3041

E-mail: martais@ial.sp.gov.br

Santa Catarina

Laboratório Central de Saúde Pública

Av. Rio Branco, 172, fundos, Centro

CEP: 88015-201, Florianópolis-SC

Tel.: (48) 3251-7801/7800/7813/7817/7802

Fax: (48) 3251-7900

E-mail: lacen@saude.sc.gov.br

Sergipe

Instituto Parreiras Horta

Rua Campo do Brito, 551, São José

CEP: 49020-380, Aracaju-SE

Tel.: (79) 3234-6000

Fax: (79) 3214-1863

E-mail: gpresi@hemolacen.se.gov.br

Tocantins

Laboratório Central de Referência em Saúde Pública

601 Sul, Av. LO 15, Conjunto 2, Lote 1, Planalto Diretor Sul

CEP: 77054-970, Palmas-TO

Tel.: (63) 3218-3237/3239/3223

Fax: (63) 3218-3220/3228

E-mail: lacen@saude.to.gov.br

Glossário

Anticorpos: ou imunoglobulinas, são glicoproteínas sintetizadas e excretadas por plasmócitos derivados dos linfócitos B, presentes no plasma, tecidos e secreções, que atacam proteínas estranhas ao corpo, chamadas de antígenos, realizando, assim, a defesa do organismo (imunidade humoral).

Antígeno: qualquer substância que consiga induzir resposta imunológica detectável, quando introduzida no organismo de um animal. O que caracteriza o antígeno é a presença de estruturas moleculares (epítopos) cujas superfícies sejam complementares às de sítios determinados (parátopos) existentes na superfície de algum linfócito.

Colo: existente nos cestóides, é um segmento delgado do corpo, entre o escólex e o estróbilo, em que ocorrem intensa multiplicação celular e formação contínua de novas proglotes.

Diluição: adição de um solvente a um soluto ou mistura para decrescer a concentração de um soluto ou composto.

Dispneia: estado em que o paciente apresenta dificuldade respiratória por qualquer causa, acompanhada de sensação de opressão e mal-estar.

Enzima: grupo de substâncias orgânicas de natureza normalmente proteica, com atividade intra ou extracelular, que tem funções catalisadoras, catalisando reações químicas que, sem a sua presença, dificilmente aconteceriam. Isso é conseguido a partir do aumento da velocidade das reações químicas, possibilitando o metabolismo dos seres vivos.

Escólex: é a "cabeça" da tênia, região anterior do corpo que adere à parede intestinal através das ventosas e ganchos.

Estróbilo: toda a cadeia de proglótides da tênia.

Helminto: termo geral e pouco preciso para designar metazoários que pertencem quase sempre aos filos *Platyhelminthes* e *Nemathelminthes*, ou também aos *Acanthocephala*, *Pentastomida* e *Annelida*. Em alguns casos, é usado no mesmo sentido que verme; em outros, refere-se somente a vermes parasitos.

Hemoptise: expectoração de sangue, devido à hemorragia das vias respiratórias.

Hidátide: forma larvária dos cestóides do gênero *Echinococcus*, que se desenvolve, a partir da oncosfera, nos tecidos dos hospedeiros intermediários, como uma vesícula geralmente esférica.

Hospedeiro: organismo no qual o parasito vive.

Hospedeiro definitivo: aquele no qual se desenvolve a fase adulta do parasito (sexuada).

Hospedeiro intermediário: aquele onde se desenvolve a fase assexuada, larvária ou juvenil do parasito.

Imunoglobulinas: compreende a superfamília de proteínas, que, além de anticorpos (Ig) circulantes no sangue e líquidos orgânicos, representa muitas moléculas encontradas como marcadores ou receptores em membranas celulares.

Infecção: contaminação ou invasão do corpo por um microrganismo parasito, que pode ser um agente patogênico ou não.

Oncosfera: embrião da tênia com seis ganchos.

Prevalência: número de casos de uma doença ou de pessoas atingidas por essa doença, bem como o de outros eventos mórbidos que ocorrem em uma população determinada, durante um período definido, sem que se façam distinções entre casos novos ou antigos.

Proglote: cada um dos segmentos que formam o corpo ou estróbilo dos *Cestoidea*.

Protoescólex: escólex formado por brotamento interno nas vesículas prolígeras da hidátide.

Rostro: estrutura muscular e retrátil que suporta, em geral, uma coleção de acúleos, movimentados para a fixação do parasito.

Ventosas: estruturas musculares que se apresentam geralmente como depressões em forma de cúpula ou taça, destinadas à aderência ou fixação dos parasitos.

Vesícula aquosa: pequeno saco contendo líquido.

Ministério da Saúde Fundação Oswaldo Cruz

Paulo Gadelha

Valcler Rangel Fernandes

Wim Degrave

Mirna Teixeira

Instituto Oswaldo Cruz

Tânia Araújo-Jorge

Christian Niel

Claude Pirmez

Ricardo Lourenço

Elizabeth Rangel

Hidatidose humana no Brasil. Manual de procedimentos técnicos para o diagnóstico parasitológico e imunológico.

Rosângela Rodrigues-Silva

Fomento: Programa de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde Pública - PDTSP/Fio

Equipe Técnica

Conteúdo

Rosângela Rodrigues-Silva – Serviço de Referência Nacional em Hidatidose, Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz [rsilva@ioc.fiocruz.br]

Fernanda Barbosa de Almeida – Serviço de Referência Nacional em Hidatidose, Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz [almeida@ioc.fiocruz.br]

José Roberto Machado-Silva – Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro [machadosilva@pq.cnpq.br]

Colaboradores

Aline Kelen Vesely Reis – Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública, Secretaria de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde [aline.reis@saude.gov.br]

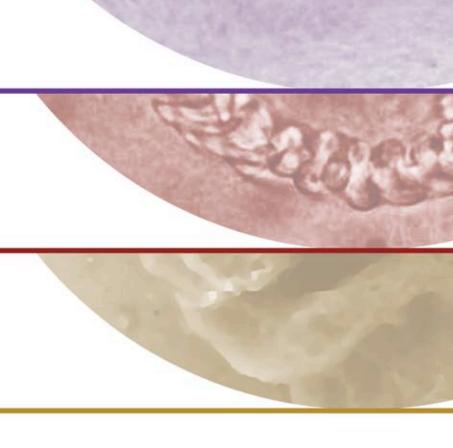
Lucas de Andrade Barros – Serviço de Referência Nacional em Hidatidose, Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz [labarros@ioc.fiocruz.br]

Nilton Guiotti Siqueira - Departamento de Cirurgia, Universidade Federal do Acre [ngs@ufac.br]

Revisão Técnica

José Mauro Peralta – Instituto de Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro [peralta@micro.ufrj.br]





Ouvidoria do SUS 136

Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde www.saude.gov.br/bvs

Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde **www.saude.gov.br/svs**





