



Universidade
Católica de Brasília

MANUAL DE PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO

PARASITOLOGIA

ESPAÇO DE APRENDIZAGENS PRÁTICAS-PROFISSIONAIS – EAP’ S

Brasília - DF
2022

APRESENTAÇÃO

O Laboratório de Parasitologia é utilizado para o estudo de helmintos, protozoários e ectoparasitos, a doença causada por eles e os vetores que os transmitem. Está equipado para a rotina de aulas práticas e projetos de pesquisa.

Este localizado no Campus I da Universidade Católica de Brasília, no Bloco São Gaspar Bertoni, sala M-122. Conta com uma área total de 79,39 m², dividida em área de uso comum (com bancadas, pias, tanques, armários e mobiliário) e interlab (com bancada e armários e material de uso mais restrito - material bibliográfico, equipamentos de projetos de pesquisa).

ÍNDICE

1 – OBJETIVO.....	4
2 – RESPONSABILIDADE	4
2.1 CURSOS QUE UTILIZAM O LABORATÓRIO:	4
2.2 PESSOAS ENVOLVIDAS DIRETAMENTE COM O LABORATÓRIO:	4
2.3 PLANO DE AVALIAÇÃO PERIÓDICA DOS ESPAÇOS	4
2.4 PLANO DE MANUTENÇÃO E GUARDA PATRIMONIAL	4
2.5 PLANO DE LIMPEZA E ORGANIZAÇÃO	4
2.6 PLANO DE ATUALIZAÇÃO DOS EQUIPAMENTOS	5
2.7 AGENDAMENTO DE AULAS PRÁTICAS.....	5
3 – NORMAS DO LABORATÓRIO	6
4 - ATIVIDADES DESENVOLVIDAS.....	6
PARASITOLOGIA CLÍNICA	6
PARASITOLOGIA GERAL	6
5 - PROCEDIMENTOS	6
5.1 EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL - EPI	6
5.2 EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO COLETIVA - EPC	6
5.3 HIGIENIZAÇÃO/DESINFECÇÃO	7
5.4 OPERAÇÕES DOS EQUIPAMENTOS	7
<i>Fluxo Laminar: Voltagem 220v</i>	<i>7</i>
<i>Banho-Maria Metabólico Tipo Dubnoff.....</i>	<i>8</i>
<i>Banho-Maria Sorológico.....</i>	<i>8</i>
<i>Centrífuga.....</i>	<i>7</i>
<i>Centrífuga Excelsa II – Fanem 206BL.....</i>	<i>8</i>
<i>Microscópio Olympus.....</i>	<i>9</i>
<i>Microscópio Zeiss.....</i>	<i>9</i>
<i>Microscópio Zeiss De Imunofluorescência Conectado Com A Vídeo-Câmera Colorida;.....</i>	<i>10</i>
<i>Balanças De Pesagem.....</i>	<i>12</i>
5.5 TÉCNICAS REALIZADAS NO LABORATÓRIO.....	11
<i>Exame Parasitológico de Fezes - EPF.....</i>	<i>11</i>
<i>Método de Willis e Método de Baermann-Moraes.....</i>	<i>11</i>
<i>Método de MIFC ou de BLAAG</i>	<i>11</i>
<i>Exame Parasitológico de Sangue.....</i>	<i>11</i>
5.6 COLETAS, ACONDICIONAMENTO E RECOLHIMENTO DOS RESÍDUOS	12
6 - CONDUTAS A SEREM ADOTADAS EM CASOS DE ACIDENTES.....	12
6.1 CONTATOS DE EMERGÊNCIA	13
7 – ANEXO I.....	14



EMISSÃO		02/04/2018
Elaboração: Ana Cláudia Alves/ Elias Rosa de Souza	Assinatura ou Rubrica	Data: 02/04/2018
Revisão: Samuel Dias Araújo Júnior	Assinatura ou Rubrica	Data:
Aprovação: Samuel Dias Araújo Júnior	Assinatura ou Rubrica	Data:

1 – OBJETIVO

Descrever de forma simples e objetiva as técnicas, atividades e operações realizadas no laboratório.

2 – RESPONSABILIDADE

2.1 Cursos que utilizam o laboratório:

Regular

- Biomedicina
- Ciências Biológicas
- Farmácia
- Engenharia Ambiental
- Nutrição
- Medicina
- Gastronomia

2.2 Pessoas envolvidas diretamente com o laboratório:

- Supervisão do EAP's

- Thalita Tormim

- Técnico:

- Elias Rosa

2.3 Plano de avaliação periódica dos espaços

A verificação dos laboratórios é feita diariamente pelo técnico que identificando algum problema de infraestrutura abrirá um chamado via sistema SISPREM para que a equipe de manutenção providencie os reparos necessários.

2.4 Plano de manutenção e guarda patrimonial



Anteriormente ao início do semestre a limpeza dos equipamentos e geladeiras são feitos, e se necessário, as calibrações internas de equipamentos específicos sempre no início e no fim dos semestres afim de preparar os equipamentos para início das aulas práticas.

2.5 Plano de limpeza e organização

O piso é limpo todos os dias pelos servidores do serviço de limpeza e conservação, conforme escala estabelecida pela gestão de Higienização da UCB.

As bancadas são limpas com sabão neutro e álcool 70° no início e ao término de todas as aulas. Equipamentos e materiais são encaminhados para a limpeza e desinfecção ao término de cada aula (ex: tubos de ensaio, espátulas, almotolias etc.), primeiramente ficam por cerca de 24h de molho em solução de cloro a 1%, em seguida são enxaguados e lavadoras normalmente com sabão neutro e novamente enxaguados com água corrente e preferivelmente pelo menos três enxagues com água destilada. No caso de derramamento fluidos biológicos dentro de equipamentos (centrífugas, estufas etc.) deve imediatamente ser descontaminados com hipoclorito 1% e em seguida passar álcool 70%.

O laboratório possui identificações quanto ao que está em cada armário e gaveta, bem como os riscos químicos e biológicos.

2.6 Plano de atualização dos equipamentos

Anualmente ocorre uma previsão orçamentária de Investimentos para o laboratório, seu grau de importância e urgência.

2.7 Agendamento de aulas práticas

Ao início do semestre é solicitado aos professores que utilizam os laboratórios, bem como os coordenadores dos cursos, os planos de ensino com as datas e roteiros das práticas. O agendamento é solicitado por e-mail para o reservasala@ucb.br e são acompanhadas via sistema VBI, bem como planilha compartilhada com os laboratórios de Microbiologia, Parasitologia e Tecnologia de Alimentos para controle pessoal.



3 – NORMAS DO LABORATÓRIO

- Não é permitida a presença de pessoas não autorizadas no laboratório.
- A chave do laboratório está na responsabilidade do técnico do laboratório e somente será liberada aos alunos e pesquisadores que tiverem autorização.
- É obrigatório o uso de EPI – *Equipamento de Proteção Individual* (jaleco, sapato fechado, e luvas sempre durante a realização de qualquer procedimento além de gorro e máscara caso se faça necessário) dentro do laboratório (Portaria da reitoria nº 143 NR06).
- Todos os alunos que utilizarem o laboratório devem ser orientados pelo professor e técnico quanto ao seu funcionamento antes do início das atividades no laboratório.
- É proibida a entrada e o consumo de qualquer tipo de alimento ou bebida.
- Após os procedimentos realizados no laboratório o aluno deverá deixá-lo limpo e organizado, e verificar se desligou todos os equipamentos que utilizou.

4 - ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

Aulas práticas, projetos de pesquisa e monitorias.

AULA PRÁTICA (*anexo 1*)

- Parasitologia Clínica
- Parasitologia Geral

5 - PROCEDIMENTOS

5.1 Equipamentos de Proteção Individual - EPI

- Para manipulação de reagentes: Jaleco, óculos, luvas e máscara.
- Para manipulação de corantes: jaleco e luvas.

5.2 Equipamentos de Proteção Coletiva - EPC

- **Fluxo Laminar:** É importante que a cabine esteja funcionando no mínimo 30 minutos antes do início do trabalho e permaneça ligada mais 30 minutos após a conclusão do trabalho, e ser submetida a processo de limpeza, descontaminação e desinfecção, nas paredes laterais e internas e superfície de trabalho antes do



início das atividades, e na ocorrência de acidentes e derramamentos de respingos.

- Limpar o interior do equipamento com bucha e sabão
- Higienizá-lo com álcool 70%
- Ligar o fluxo apertando o botão verde, localizado na parte anterior
- Selecionar a chave metálica para cima (em direção à palavra “germicida”)
- Após 30 minutos, retornar a chave metálica para baixo (em direção à palavra “luz”)
- Desligue o aparelho apertando o botão vermelho e para desligar a luz branca deixe a chave metálica entre “germicida” e “luz”.
- **Lava-olhos de Emergência:** É um equipamento utilizado para acidentes na mucosa ocular, o jato de água também deve ser forte e dirigido aos olhos. Quando ocorrer acidente com derrame de material nos olhos, estes devem ser lavados por, no mínimo 15 minutos, para remoção da substância, reduzindo danos ao indivíduo.
- **Chuveiro de Emergência:** posicionar-se em baixo do crivo e acionar a haste tipo triângulo de acionamento. Tomar uma ducha por 15 minutos. Despir-se caso a roupa estiver contaminada. Procurar assistência médica imediatamente.

5.3 Higienização/Desinfecção

- O piso é limpo duas vezes ao dia pelos servidores do serviço de limpeza e conservação.
- As bancadas são limpas com sabão e álcool 70° ao término de todas as aulas.
- Locais infectados com materiais biológicos deverão ser descontaminados com solução de cloro a 1,0% ou álcool 70%.
- Equipamentos e materiais são lavados ao término de cada aula, e se estiverem contaminados por fungos e/ou bactérias, são autoclavados.

5.4 Operações dos equipamentos

Fluxo Laminar: Voltagem 220v

- Limpar o interior do equipamento com bucha e sabão



- Higienizá-lo com álcool 70%
- Ligar o fluxo apertando o botão verde, localizado na parte anterior
- Selecionar a chave metálica para cima (em direção à palavra “germicida”)
- Após 30 minutos, retornar a chave metálica para baixo (em direção à palavra “luz”)
- Desligue o aparelho apertando o botão vermelho e para desligar a luz branca deixe a chave metálica entre “germicida” e “luz”.

Banho-Maria Metabólico Tipo Dubnoff

- Adicionar água destilada no interior da cuba, o volume final fica a critério do usuário, entretanto, é aconselhável que o volume seja igual ao dos recipientes a serem agitados.
- Conectar adequadamente os recipientes nas garras em aço inoxidável, se acaso as garras estiverem sem pressão, deve-se pressioná-las para baixo afim de promover o efeito mola.
- Conectar o cabo elétrico a uma tomada compatível de voltagem 220 volts.
- Selecionar a velocidade desejada fazendo uso do Knob (ajuste RPM)
- Selecionar a temperatura desejada fazendo uso das teclas do controlador de temperatura (“ / ” e FN”)
- O display sempre mostrará a temperatura real, para visualizar ou alterar a temperatura aperte a tecla “FN” e aparecerá “SP”, mesmo que piscando, utilize as teclas
- para diminuir ou aumentar a temperatura a ser programada, após esse procedimento, acione novamente a tecla “FN” e o programa estará concluído com os novos valores de temperatura.

Banho-Maria Sorológico

- Adicionar água destilada no interior da cuba, até a altura do cesto de alumínio
- Conectar o cabo elétrico a uma tomada compatível de voltagem 220volts.
- Selecionar a chave “liga/desliga”
- Selecionar a temperatura desejada no botão °C.



Centrifuga

- Antes de conectar o aparelho a rede elétrica, verificar se a rede na qual será conectado corresponde a voltagem e potência do equipamento.
- O plug do cabo de alimentação deve ser ligado em uma tomada fixa na parede ou bancado
- Ligar a centrífuga na chave geral localizada na parte lateral do equipamento
- Realizar a programação ajustando: o tempo do processo e a rotação.
- Uma vez escolhidos todos os parâmetros, os mesmos são mostrados na tela, e para que se inicie o processo, aperte a tecla “START”.
- Ao terminar o processo de aceleração aparecerá na tela caracteres que indicaram que o rotor encontra-se na velocidade programada.
- Se desejar interromper o processo antes do tempo determinado, basta apertar a tecla “STOP”, a centrífuga irá começar a desacelerar até parar.
- Ao parar totalmente a mesma emitirá um sinal sonoro, indicando que o rotor já se encontra totalmente parado, podendo então ser aberta a tampa.
- Acione a trava da tampa na parte superior da centrífuga para retirada do material do seu interior.

Centrifuga Excelsa II – Fanem 206BL:

- Antes de conectar o aparelho a rede elétrica, verificar se a rede na qual será conectado corresponde a voltagem e potência do equipamento.
- O plug do cabo de alimentação deve ser ligado em uma tomada fixa na parede ou bancado
- Ligar a centrífuga na chave geral localizada na parte traseira do equipamento
- Realizar a programação desejada no painel frontal.
- Escolha dos programas de início: existem 4 programas – principal, prog1, prog 2 e prog 3, conforme a pré-programação do usuário.
- Realizar a programação ajustando: o tempo do processo, escolha do rotor, aceleração, a rotação, escolha de idioma.
- Uma vez escolhidos todos os parâmetros, os mesmos são mostrados na tela, e para que se inicie o processo, aperte a tecla “I/O”



- Aparecerá na tela caracteres e indicaram que o rotor está em aceleração
- Ao terminar o processo de aceleração aparecerá na tela caracteres que indicaram que o rotor encontra-se na velocidade programada
- Se desejar interromper o processo antes do tempo determinado, basta apertar a tecla “I/O”, a centrifuga irá começar a desacelerar até parar.
- Ao parar totalmente a mesma emitirá um sinal sonoro, indicando que o rotor já se encontra totalmente parado, podendo então ser aberta a tampa.
- Acione a trava da tampa na parte inferior da centrífuga para retirada do material do seu interior.

Microscópio Olympus

- Sequência de ajuste inicial do microscópio
- Ajuste a voltagem com o seletor de voltagem do microscópio de acordo com a acordo com a voltagem da rede elétrica local
- Ligue a fonte luminosa
- Coloque a lâmina na platina
- Destrave a trave mecânica de pré-focalização
- Focalize a lâmina com a objetiva 10 x
- Ajuste a distância interpupilar a correção dióptrica
- Coloque a objetiva adequada para observação
- Ajuste a intensidade da luz com o reostato deslizante
- Focalize com o botão macrométrico e micrométrico
- Trave a pré-focalização
- Ajuste o contraste de imagem com o diafragma de abertura, estando o condensador na posição máxima superior.
- Para observação com a objetiva 100 x , é necessário uma gota de óleo de imersão sintético para microscopia.

Importante: Depois do uso, limpe o óleo sintético com um pano macio e um pouco de xilol ou éter sulfúrico na superfície ótica. Nunca deixe o óleo nas superfícies óticas depois do trabalho.

As lentes devem estar sempre limpas. Poeira fina nas superfícies pode ser removida com um pano ou pincel limpos e impressões digitais limpam-se



com um pouco macio e um pouco de xilol, benzina ou éter sulfúrico. Não use soluções orgânicas para limpar as superfícies dos componentes, especialmente nas partes plásticas, deve ser usado detergente neutro.

Microscópio Zeiss

Seqüência de ajuste inicial do microscópio:

- Verificar a voltagem do microscópio de acordo com a voltagem da rede elétrica local
- Ligue a fonte luminosa
- Coloque a lâmina na platina
- Destrave a trave mecânica de pré-focalização
- Focalize a lâmina com a objetiva 10 x
- Ajuste a distância interpupilar a correção dióptrica
- Coloque a objetiva adequada para observação
- Ajuste a intensidade da luz no mesmo botão de liga/desliga;
- Focalize com o botão macrométrico e micrométrico
- Ajuste o contraste de imagem com o diafragma de abertura, estando o condensador na posição máxima superior.
- Para observação com a objetiva 100 x, é necessário uma gota de óleo de imersão sintético para microscopia.

Importante: Depois do uso, limpe o óleo sintético com um pano macio e um pouco de xilol ou éter sulfúrico na superfície ótica. Nunca deixe o óleo nas superfícies óticas depois do trabalho.

As lentes devem estar sempre limpas. Poeira fina nas superfícies pode ser removida com um pano ou pincel limpos e impressões digitais limpam-se com um pouco macio e um pouco de xilol, benzina ou éter sulfúrico. Não use soluções orgânicas para limpar as superfícies dos componentes, especialmente nas partes plásticas, deve ser usado detergente neutro.



Microscópio Zeiss De Imunofluorescência Conectado Com A Vídeo-Câmera Colorida;

- Conectar o cabo na câmera em vídeo out e no adaptador da câmera em “câmera mod .1”
- Conectar o outro cabo no adaptador da câmera em “vídeo out” e no monitor em “entrada A – in”
- Verificar a voltagem elétrica do adaptador e do microscópio
- Conectá-los (adaptador, monitor e microscópio) ao estabilizador;
- Ligar à rede elétrica.
- Ligar o microscópio na chave geral.
- Ligar o monitor na tecla Power –selecionar input select vídeo A
- Ligar o adaptador na tecla Power.
- Na lateral do microscópio, selecionar na chave a visualização pelo microscópio, microscópio-câmera ou somente câmera, conforme estampado no equipamento.
- Utilizando a imunofluorescência: - ligar o HBO-100 transformer no botão liga/desliga
- Ajustar o filtro desejado de acordo com o material a ser visualizado (epi-fluorescência, excitação verde e azul).
- Ajustar o controle de intensidade da luminosidade do condensador no botão situado na lateral. Visor frontal escala de 1-10.
- A transmissão de luz é regulada nos controles laterais em 03 níveis, deslizando para dentro ou para fora do compartimento de filtro transmissor de luz. (0-1,5) (0-6,0) (0-25).
- Focalize o material utilizando as objetivas.

Balanças De Pesagem

- Ligar à rede
- Ligar no botão “liga/desliga”
- Aguardar estabilização
- Para zerar a balança, aperte a tecla “TARE”.



5.5 Técnicas realizadas no laboratório

Preparo de aulas práticas

Conforme determinado em cada planejamento (anexo I);

- Exame Parasitológico de Fezes - EPF
- Método de Willis e Método de Baermann-Moraes
- Método de MIFC ou de BLAAG
- Exame Parasitológico de Sangue

5.6 Coletas, Acondicionamento e Recolhimento dos resíduos

Todos os resíduos gerados no laboratório são segregados e devidamente acondicionados, conforme legislação vigente e da seguinte maneira:

- Resíduos infectantes - meios de cultura com bactérias e fungos. Os resíduos são descontaminados através do processo de autoclavação e dispostos em sacos brancos leitosos identificados. Os sacos são recolhidos e encaminhados para o Abrigo de Resíduos Infectantes (próximo ao bloco S);
- Resíduos perfurocortantes – São dispostos em coletores adequados de material resistente. Quando atingem 2/3 de sua capacidade são acondicionados em saco branco leitoso, identificados e encaminhados ao abrigo de Resíduos Infectantes (próximo ao bloco S);
- Demais resíduos – Lixeira comum (ao final do expediente segregados conforme classificação de recicláveis);
- Os resíduos são recolhidos diariamente pela equipe de higienização e transportados para o armazenamento externo (abrigos). O recolhimento se dá em horário pré-estabelecido e, quando necessário, imediatamente após a sua geração.

6 - CONDUTAS A SEREM ADOTADAS EM CASOS DE ACIDENTES



É fundamental informar a Brigada de Incêndio, ao Serviço Especializado de Segurança e Medicina do Trabalho (SESMT), a Coordenação do EAP's e aos Responsáveis pelo laboratório a ocorrência de qualquer acidente no laboratório.

Ocorrendo acidentes com produtos químicos, proceder conforme a ficha de emergência do referido produto.

Acidentes envolvendo materiais biológicos, lavar a região com água e sabão bactericida e álcool 70°. No caso de olhos, lavar com água imediatamente.

Entrar em contato com o SESMT e /ou a enfermaria mais próxima.

Choques elétricos: interromper a descarga, com desligamento da chave imediato.

6.1 Contatos de emergência

- Brigada de Incêndio – 3356-9439
- Serviço Especializado de Segurança e Medicina do Trabalho (SESMT) – 3356-9100 / 3356-9287
- Coordenação dos EAPs – 3356-9050 /
- Bombeiro/Defesa Civil - 193/199
- Laboratório de Parasitologia – 3356-9359



7 – ANEXO I

Parasitologia Clínica

AULA PRÁTICA N°2

Exame Parasitológico de Fezes - EPF

O Exame parasitológico de fezes, EPF, é um exame utilizado para a detecção de processos infecciosos causados por parasitas do tipo protozoário, ou ainda por parasitas helmintos. Neste exame é possível a observação de cisto, trofozoítos, ovos e larvas. Existem diversas técnicas que permitem a realização deste exame, dentre as quais se destaca a sedimentação espontânea, ou método de Hoffman, que se baseia na formação de sedimentos que são posteriormente colocados em lâminas e podem ser corados ou não para melhor observação.

Os principais parasitas que acometem o homem são: *Giardia lamblia*, *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolytica* e em crianças, é comum a infecção por *Enterobius vermiculares*.

2. Coleta e preparação da Amostra

As amostras para a realização do EPF são coletadas pelo próprio paciente, que deve ser orientado a coletar as amostras utilizando-se de um recipiente adequado e limpo. Deve-se coletar as fezes de três porções: início, meio e fim. Após a coleta, a amostra deve ser colocada imediatamente em um meio conservante, para evitar que haja proliferação de bactérias e que a amostra se torne inviável para a realização do exame.



3. Material Utilizado

Coleta:

- Recipiente de coleta universal limpo;
- Conservante (MIF);

Preparação das Amostras:

- Cálices de Vidro/Plástico;
- Pipetas Pasteur;

Análise:

- Laminas de vidro;
- Lamínulas de vidro;
- Corante Lugol;
- Microscópio Óptico;

4. Procedimento

Após a coleta, as amostras ao chegarem ao laboratório devem ser colocadas para sedimentarem. O tempo de sedimentação é variado, e vai de 2 (duas) até 24 horas (vinte e quatro). Decorrido este período, é descartado o sobrenadante e em seguida é confeccionada a lamina e é realizada a coloração da mesma com Lugol. Por fim cobre-se a amostra com uma lamínula. Em seguida as amostras estão prontas para serem observadas ao microscópio.

MÉTODO DE HOFFMAN, PONS & JANER ou HPJ – (Sedimentação espontânea)

Utilizado na pesquisa de cistos de protozoários e ovos de helmintos:



1. Dissolver cerca de 10g de fezes em 10 ml de H₂O em frasco pequeno
2. Filtrar em gaze dobrada em quatro, utilizando um cálice de sedimentação
3. Lavar o frasco 2X despejando a água na gaze
4. Completar o cálice com água e homogenizar com bastão de vidro.
5. Deixar em repouso de 2 a 24 horas.
6. Com uma pipeta tampada, retirar uma amostra do fundo do vértice do cálice, destampando a pipeta após imergí-la.
7. Examinar ao microscópio, adicionando uma gota da solução de lugol.

Preparação do Conservante - MIF:

MIF (Mertiolato, Iodo e Formaldeído)

Glicerina	5 ml
Formaldeído (40%)	25 ml
Mertiolato (ou mercurocromo) 0,1%	200 ml
Água destilada	200 ml
Solução de lugol	43 ml
Total	473 ml

Preparação do Corante - Lugol:

Solução de lugol:

Lugol	2,0 g
Iodeto de Potássio - KI	4,0 g
Água destilada	Completar para 100 ml

AULA PRÁTICA N° 3

Método de Willis e Método de Baermann-Moraes



- **Willis**

- Flutuação em solução saturada de cloreto de sódio (NaCl)
- Utilizado na pesquisa de ovos leves de Helmintos

PROCEDIMENTO

1. Dissolver cerca de 1g de fezes em uma solução saturada de NaCl em um recipiente para fezes de 3 cm de diâmetro;
2. Colocar sobre a borda do recipiente uma lâmina comum e completar o volume até que este toque a superfície inferior da lâmina;
3. Deixar repousar por um a cinco minutos;
4. Levantar a lâmina, invertendo-a rapidamente para evitar a queda do material em suspensão;
5. Adicionar uma gota de lugol;
6. Cobrir com uma lamínula;
7. Observar ao microscópio.

- **Baermann-Moraes**

- Evidenciação de larvas de helmintos através do hidrotropismo e termotropismo positivo das mesmas
- Utilizado na pesquisa e isolamento de larvas de *Strongyloides stercoralis* de fezes e de larvas de nematóides (ancilostomídeos) do solo

PROCEDIMENTO

1. 8-10 g de fezes



2. Colocar numa gaze dobrada em quatro ou em tela de nylon (peneira);
3. Colocar o material assim preparado sobre um funil de vidro, contendo um tubo de borracha conectado à extremidade inferior de sua haste;
4. Obliterar o tubo de borracha com uma pinça de Hoffman e adicionar, ao funil, água aquecida a 45°C em quantidade suficiente para entrar em contato com as fezes;
5. Deixar uma a duas horas em repouso;
6. Findo esse tempo, colher 5-7 mL da água, em um tubo de centrífuga, abrindo-se a pinça;
7. Centrifugar a 1.000 rpm por um minuto;
8. Coletar o sedimento sem desprezar o sobrenadante e examinar ao microscópio;
9. Caso haja a presença de larvas, essas deverão ser coradas e mortas com lugol e observadas com a objetiva de 40x, para identificação.

AULA PRÁTICA N°4

Método de MIFC ou de BLAAG

- Fundamento: Sedimentação por centrifugação.
- Evidenciação de cistos e oocistos de protozoários e ovos de helmintos
 1. Colher as fezes recém-emitidas em líquido conservador de MIF.
 2. Homogeneizar bem.
 3. Filtrar a suspensão de fezes em gaze cirúrgica dobrada em quatro, num copo plástico descartável.
 4. Transferir de 1 a 2mL do filtrado para um tubo cônico de centrifugação, com capacidade para 15mL.
 5. Acrescentar 4 a 5mL de éter sulfúrico e agitar vigorosamente (importante para desengordurar o material).
 6. Centrifugar por 1 minuto a 1.500rpm.



7. Com o auxílio de um bastão, descolar a camada de detritos da parede do tubo.
8. Inverter o tubo para desprezar o líquido, mantendo-o com a boca voltada para baixo, até limpar a parede do mesmo, utilizando um bastão de vidro (ou palito de picolé) contendo algodão na extremidade.
9. Acrescentar ao sedimento gotas de salina e/ou lugol.
10. Inverter o tubo em uma lâmina, deixando escoar todo o sedimento. Se a quantidade de sedimento for excessiva, utilizar uma pipeta para colhê-lo e preparar as lâminas.

Observações:

- Para a concentração de oocistos de *Cryptosporidium*, o tempo de centrifugação deve ser aumentado para dez minutos.
- O método de Ritchie ou “formol-éter” tem o mesmo princípio, sendo a técnica basicamente a mesma. A principal diferença é que neste as fezes são colhidas em formal a 10%.

Coprotest (1986)

Fundamento: Centrífugo-sedimentação em acetato de etíla.

Vantagem:

- Eficaz para parasitoses intestinais em geral;
- Não requer espaço físico;
- Prático na manipulação.

Desvantagem:

- Utiliza amostra única de fezes.



AULA PRÁTICA Nº 5

Exame Parasitológico de Sangue

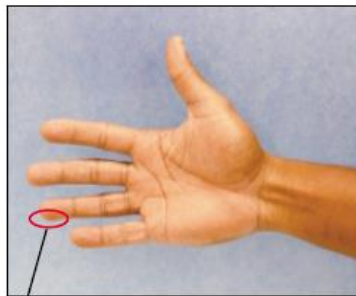
- Malária
- Filariose linfática
- Doença de Chagas / Leishmanioses
- Outras
- Fase aguda
- Devem ser executados imediatamente após a coleta do sangue
 - Material fresco
- Anticoagulantes
 - Heparina ou citrato
 - Menos nítida que em material fresco

Coleta do sangue

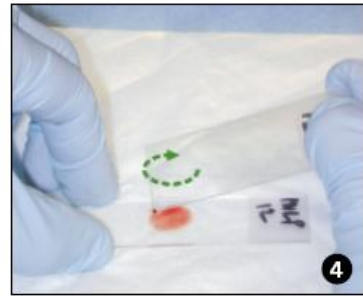
- Pele fina e boa irrigação sanguínea
 - Polpa digital do anular esquerdo
 - Lóbulo da orelha
- Molhar algodão em álcool iodado ou álcool puro
- Limpar a superfície escolhida
- Esperar secar bem o local
 - Se estiver molhado pelo desinfetante ou pelo suor, haverá hemólise no local



- Com uma lanceta, esterilizada, fazer uma pequena punção no local
- Comprimir a região até sair pequena gota de sangue
- Examinar por um dos processos a seguir



De préférence, piquer ici:
sur l'annulaire, sur le côté
de la pulpe du doigt



Métodos de exame

- **Direto ou a fresco**
 - Permite visualizar os parasitos vivos, movimentando-se
1. Coletar a gota do sangue no centro de uma lâmina
 2. Cobrir com lamínula (rapidamente)
 3. Para retardar a coagulação, adicionar uma ou duas gotas de salina
 4. Levar essa preparação ao microscópio

Esfregaços:

5. Esfregaço em camada delgada = gota estirada
 1. Identificação da forma e da espécie
6. Esfregaço em camada espessa = gota espessa



1. Mais utilizado em diagnóstico epidemiológico
2. Método de enriquecimento: a gota é disposta em uma pequena área e examinada
3. Economia de temp
4. Identificação específica é dificultada

Esfregaço em camada delgada

1. Colocar uma gota de sangue na extremidade direita de uma lâmina apoiada sobre a bancada
2. Pegar outra lâmina, segurar por cima com a mão direita e, com uma inclinação de 45°, encostar adiante da gota
3. Deixar a mesma se espalhar pela superfície de contato das duas lâminas
4. Puxar a gota espalhada até o fim da lâmina
5. Secar por agitação vigorosa imediatamente (para evitar hemólise)
6. Corar pelo Giemsa ou Leishman conforme indicado adiante

Esfregaço em gota espessa

1. Colocar 5 mm³ de sangue na lâmina
2. Com o canto de outra lâmina, espalhar essa gota numa área de 1 cm²
3. Deixar secar ao ar durante seis a 36 horas
4. Entre seis e 36 horas (não ultrapassar esses períodos), corar pelo Giemsa (uma gota de solução-estoque por ml de solução-tampão)
5. Deixar em repouso por 30 minutos
6. Lavar e examinar

Para se corar pelo Giemsa, após feito o esfregaço:



1. Fixar pelo álcool metílico: 5 gotas por dois minutos
2. Preparar o corante: três gotas do Giemsa em 2 mL da solução-tampão
3. Cobrir o esfregaço e deixar em repouso por 20 a 30 minutos
4. Escorrer o corante e lavar em água corrente
5. Deixar secar e examinar ao microscópio

Para se corar pelo Leishman, após feito o esfregaço:

1. Cobrir o esfregaço com 6-7 gotas de corante

O esfregaço não necessita de fixação prévia pelo álcool metílico, pois este já faz parte da fórmula do corante

1. Deixar agitar por 15 segundos no máximo
2. Adicionar 12-14 gotas de solução-tampão
3. Homogeneizar, soprando-se o corante com a pipeta e deixar em repouso por 20 minutos
4. Escorrer o corante e lavar em água corrente
5. Deixar secar e examinar ao microscópio



Parasitologia Geral **AULA PRÁTICA N°1**

VISUALIZAÇÃO DE LAMINÁRIO

Lâmina 11. Cistos de *Entamoeba coli* - exame coproscópico

Lâmina 11 Cistos de *Entamoeba coli* - exame coproscópico

Lâmina Cistos de *Giardia lamblia* - exame coproscópico

Lâmina Cistos de *Giardia lamblia* - exame coproscópico

Lâmina 10 Trofozoíto de *Entamoeba histolytica* - cultura

Lâmina 10 Trofozoíto de *Entamoeba histolytica* - cultura

Lâmina 08 Trofozoíto de *Giardia lamblia* - cultura

Lâmina 08. Trofozoíto de *Giardia lamblia* - cultura

Lâmina 09. Trofozoíto de *Trichomonas vaginalis* - cultura

Lâmina 09. Lâmina Papanicolaou para *Trichomonas vaginalis* - exame ginecológico

AULA PRÁTICA N°2

VISUALIZAÇÃO DE LAMINÁRIO

Lâmina 03. Tripomastigota de *Trypanosoma cruzi* – exame sangüíneo.

Lâmina 03 Tripomastigota de *Trypanosoma cruzi* – exame sangüíneo.

Lâmina 02. Epimastigota de *Trypanosoma cruzi* – cultura.

Lâmina 02. Epimastigota de *Trypanosoma cruzi* – cultura.

Lâmina 01. Amastigota de *Trypanosoma cruzi* – visualizando ninho de amastigotas em tecido cardíaco.

Lâmina 04. Amastigotas e tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* – co-cultura de macrófago e *T. cruzi*, visualizando formas amastigotas grandes e tripomastigotas em transformação.

Lamina 07. Promastigota de *Leishmania* – cultura.

Lamina 07. Promastigota de *Leishmania* – cultura.

Lâmina 06. Amastigota de *Leishmania* – biópsia de baço.



Lâmina 06. Amastigota de *Leishmania* – biópsia de baço.

AULA PRÁTICA N°3

VISUALIZAÇÃO DE LAMINÁRIO

Lâmina 12. Taquizoítas de *Toxoplasma gondii* – co-cultura com macrófagos.

Lâmina 12. Taquizoítas de *Toxoplasma gondii* – co-cultura com macrófagos.

Lâmina 13. Trofozoítas e esquizontes de *Plasmodium falciparum* – exame sangüíneo.

Lâmina 13. Trofozoítas e esquizontes de *Plasmodium falciparum* – exame sangüíneo.

Lâmina Trofozoíta de *Plasmodium vivax* – exame sangüíneo.

Lâmina 15. Esquizonte de *Plasmodium vivax* – exame sangüíneo.

Lâmina . Gametócito de *Plasmodium falciparum* – exame sangüíneo.

Lâmina . Gametócito de *Plasmodium falciparum* – exame sangüíneo.

AULA PRÁTICA N°4

VISUALIZAÇÃO DE LAMINÁRIO

Lâmina 31. Ovos de *Schistosoma mansoni* - exame coproscópico Kato

Lâmina 32. Ovos de *Schistosoma mansoni* - exame coproscópico

Lâmina 24. Ovos de *Taenia* - exame coproscópico

Lâmina 26. Ovos de *Hymenolepis nana* - exame coproscópico

Lâmina 22. Proglote gravídica de *Taenia solium* - montada em lâmina com detalhes da ramificação uterina.

Lâmina 23. Proglote gravídica de *Taenia saginata* - montada em lâmina com detalhes da ramificação uterina.

Lâmina 25. Adulto de *Hymenolepis nana* - montada em lâmina com detalhes do escólex.

Lâmina 20. Larva cisticerco de *Taenia solium* - montada em lâmina.

Lâmina 27. Larva cercária de *Schistosoma mansoni* - montada em lâmina.

Lâmina 28. Adulto de *Schistosoma mansoni* - casal junto montados em lâmina.

Lâmina 29. Ovos de *Schistosoma mansoni* – corte histológico do fígado com visualização dos granulomas.



AULA PRÁTICA N°5

VISUALIZAÇÃO DELAMINÁRIO

Lâmina 43. Ovos de *Ascaris lumbricoides* - exame coproscópico

Lâmina 42. Ovos de *Enterobius vermicularis* - exame coproscópico

Lâmina 45. Ovos de *Trichuris trichiura* - exame coproscópico

Lâmina 37/38. Larvas de *Strongyloides stercoralis* - exame coproscópico

Lâmina 40. Adulto de *Ascaris lumbricoides* - corte histológico com nervos longitudinais.

Lâmina 44. Adulto de oxiúrus - montagem em lâmina com detalhe do esôfago.

Lâmina 36. Adulto de *Strongyloides stercoralis* - montagem em lâmina.

Lâmina 46. Adulto macho de *Ancylostoma caninum* - montagem em lâmina.

Lâmina 46. Adulto fêmea de *Ancylostoma caninum* - montagem em lâmina.

Lâmina 34. Microfilárias de *Wuchereria bancrofti* - exame sangüíneo, com detalhe da bainha.

Lâmina 35. Adulto da *Wuchereria bancrofti* - corte histológico de gânglio linfático com granuloma.



8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MARIANO, Maria Lena Melo – **Manual de parasitologia humana** – Ilhéus, Ba, Editus, 2004, p.41 a 45.
2. DE CARLI, Geraldo Attilio – **Parasitologia Clínica**: seleção de métodos e técnicas de laboratório para diagnóstico das parasitoses humanas – São Paulo, SP, Atheneu, 2001, p. 141 a 153.
3. MARKELL, E. K., JOHN, D. T., KROTOSKI, W. A. **Parasitologia Médica**. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.
4. CIMERMAN, B. & FRANCO, M. A. **Atlas de Parasitologia**: artrópodes, protozoários e helmintos. São Paulo: Atheneu, 1999.
5. NEVES, D. P., MELO, A. L., LINARDI, P. M., ALMEIDA VITOR, R. W. **Parasitologia humana**. 11ª ed. São Paulo: Atheneu, 2005.