

ROGÉRIO SAAD VAZ

**DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO, ISOLAMENTO E
CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Toxoplasma gondii*
(NICOLE & MANCEAUX, 1909) EM MULHERES GESTANTES
ATENDIDAS PELO SERVIÇO PÚBLICO NA CIDADE DE
CURITIBA.**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Processos Biotecnológicos, Área de Concentração em Saúde Humana e Animal, Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Processos Biotecnológicos.

Orientadora: Profa. Dra. Vanete Thomaz Soccol

Co-orientador: Prof. Dr. Denis José Nascimento

CURITIBA

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Vaz, R.S.

DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO, ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Toxoplasma gondii* (NICOLE & MANCEAUX, 1909) EM MULHERES GESTANTES ATENDIDAS PELO SERVIÇO PÚBLICO NA CIDADE DE CURITIBA. Rogério Saad Vaz. Curitiba-PR, 2006.

211 f.

Tese: Doutorado – Universidade Federal do Paraná. Setor Tecnológico. Pós-graduação em Processos Biotecnológicos.

Título em Inglês: SERODIAGNOSTIC, ISOLATION AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *Toxoplasma gondii* IN PREGNANT WOMEN ATTENDED BY PUBLIC HEALTH SERVICES IN THE CITY OF CURITIBA.

Palavras chave: 1. *Toxoplasma gondii*. 2. Gestantes. 3. Amniocentese
4. Diagnóstico Clínico. 5. Reação em Cadeia da Polimerase.

Key words: 1. *Toxoplasma gondii*. 2. Pregnant women. 3. Amniocentesis.
4. Clinical Diagnostic. 5. Polymerase Chain Reaction.

ROGÉRIO SAAD VAZ

DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO, ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Toxoplasma gondii* (NICOLE & MANCEAUX, 1909) EM MULHERES GESTANTES ATENDIDAS PELO SERVIÇO PÚBLICO NA CIDADE DE CURITIBA.

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências no Curso de Pós-graduação em Processos Biotecnológicos, Área de Concentração em Saúde Humana e Animal da Universidade Federal do Paraná, pela comissão examinadora:

Presidente da Banca: Prof. Dr. _____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Prof. Dr. _____

Prof. Dr. _____

Prof. Dr. _____

Curitiba, ____ de _____ de 2006

DEDICATÓRIA

À minha esposa Rossana e a minha filha Ulli, e também a minha filha “gata-persa” Lali que sempre estiveram ao meu lado em todos os momentos da minha vida, e que me deram incondicionalmente suporte emocional, e atenção necessários nas etapas mais difíceis desta tese.

Gratia tecum

À minha querida mãe Ilka, que sempre esteve ao meu lado, de quem sinto muitíssimo orgulho de ser filho.

Gratia tecum

À minha sogra Isabel, que também sempre me apoiou e orou comigo todas as vezes em que senti necessidade.

Gratia tecum

Fontibus ex modicis concrescit maximus amnis.

Werner

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Denis José Nascimento, muito obrigado por ter aberto as portas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pela paciência, atenção, incentivo e orientação durante o desenvolvimento da parte clínica deste estudo.

Gratias tibi ago

Ao Dr. Hamilton Julio e toda a equipe médica e funcionários do setor de Ecografia da Maternidade do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, que sempre me acolheram com o maior carinho e muito colaboraram durante o atendimento as gestantes e nos procedimentos de amniocentese.

Gratias tibi ago

À toda equipe do Laboratório Municipal de Curitiba, em especial a Dra. Elaine Sumikawa e a Dra. Tomoko Ito, sem as quais não seria possível a realização dos procedimentos imunoenzimáticos, nem da obtenção dos dados necessários a esta tese de doutorado.

Gratias tibi ago

Agradeço também a todos os profissionais da Secretaria Municipal de Saúde da Prefeitura de Curitiba e do Projeto Mãe Curitibana, os quais possibilitaram a realização deste estudo e que me permitiram ter o privilégio de contribuir de forma direta e indireta com a saúde da população curitibana.

Gratias tibi ago

À Prof. Dra. Vanete Thomaz Soccol, os meus agradecimentos por seu exemplo de dedicação à pesquisa e docência e pela valiosa e precisa orientação científica que tive a honra de receber em todas as etapas de execução deste trabalho.

Gratias tibi ago

Agradeço a toda a equipe de funcionários e professores e pesquisadores do Laboratório de Parasitologia Molecular da Universidade Federal do Paraná, que sempre colaboraram para a viabilização deste estudo e a finalização desta tese de doutorado, em especial às Profas. Dras. Edilene Alcântara de Castro e Rosângela Paulino.

Gratias tibi ago

Agradeço a todos os meus colegas doutorandos, por todos os momentos, fossem “*light*” ou “*heavy metal*”.....

Gratias tibi ago

Agradeço a todos os Professores e a Coordenação do Programa de Doutorado em Processos Biotecnológicos da UFPR pelo aprendizado e acima de tudo, pela compreensão e amizade durante o desenvolvimento desta tese.

Gratias tibi ago

Aos amigos do Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti, pela infinita paciência e pelo carinho durante as “*benditas*” passagens *in vivo* e *in vitro*, em especial às Médicas Veterinárias, Dra. Rosária Richartz, Dra. Mara Joineaux e Dra. Cidinha.

Gratias tibi ago

Agradeço também à Profa. Dra. Rosângela Locatelli Dittrich, pela colaboração nos difíceis e “intermináveis” procedimentos de cultivo celular de *Neospora caninum*.

Gratias tibi ago

Ao Prof.Dr. Hervé Pelloux, da Universidade de Grenoble – França, pelo apoio técnico e científico, necessários a esta tese de doutorado

Gratias tibi ago

À Profa.Dra. Florence Robert-Gangneux, do Laboratoire de Parasitologie, Centre Hospitalier Universitaire Cochin-Port Royal, Paris , França, pelas preciosas informações sobre a toxoplasmose, sobre os genótipos prevalentes e os métodos diagnósticos mais utilizados na França.

Gratias tibi ago

Agradeço a todas as gestantes que participaram deste estudo, a quem expresseo o meu maior apreço e respeito.

Gratias tibi ago

E finalmente, agradeço a Deus e a seus santos anjos, pela certeza que nos momentos de maior dificuldade me guiaram por caminhos seguros para esta tese e para a vida.

Gr̄atia Dei cum omnibus vobis

Hominis ... mens discendo alitur et cogitando

Cícero

Effugere non potes nessitates; potes vincere

Sêneca

Sapiens dominarbitur astris

Veritas Lux Mea

Lux Vincere Tenebras

Dominus Illuminatio Mea

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1 - A - Fotomicrografia Eletrônica de Taquizoíto de *Toxoplasma gondii*. B: Fotomicrografia de taquizoítos de *Toxoplasma gondii*, em coloração May Grünwald - Giemsa, obtidos de lavado peritoneal de camundongo inoculado com cepa RH de *T. gondii*. (Aumento de 1.000x)..... 14
- Figura 2 – Fotomicrografia de Bradizoítos de *Toxoplasma gondii* no interior de um cisto em corte histológico de cérebro de camundongo. Aumento 400X..... 15
- Figura 3 - Oocisto imaturos (A) e esporulados (B) de *Toxoplasma gondii*. Fotomicrografia – aumento 100X (A) e 400 X (B)..... 16
- Figura 4 - Ciclo Biológico do *Toxoplasma gondii*. 19

CAPÍTULO II

- Figura 1 - Percentual de pacientes do sexo masculino (29%, n = 153.944) e do sexo feminino (71%, n= 376.175) atendidos pelo programa de saúde do município de Curitiba durante o período de 01/04/03 a 31/07/04 (n= 530.119)..... 71
- Figura 2 – Percentual de mulheres em idade reprodutiva (15 a 49 anos) com teste imunológico de gestação reagente (TIG+) que realizaram, ou não, o exame de sorologia para Toxoplasmose, durante o período de 01/04/2003 a 31/07/2004..... 72
- Figura 3 – Percentual de mulheres em idade reprodutiva que se apresentaram reativas, para IgM e IgG anti-*Toxoplasma*, durante o período de 01/04/03 a 31/07/04..... 74
- Figuras 4 – Percentual de gestantes avaliadas pela pesquisa de imunoglobulinas IgM (A) e IgG (B) nas diferentes Administrações Regionais da Cidade de Curitiba – PR..... 75
- Figura 5 - Percentual de mulheres em idade reprodutiva (25,5±7,0) submetidas ao teste de avididade (IgG-Av, n= 166) e resultados distribuídos em: avididade fraca 28,3%(n= 47), avididade forte 58,4% (n= 97), e avididade intermediária 13,3% (n= 22), durante o período de 01/04/2003 a 31/07/2004..... 76

CAPÍTULO III

- Figura 1 - Concentração média de taquizoítos de *Toxoplasma gondii* (por mL), da 1^a a 55^a passagem intraperitoneal (IP) em camundongos Swiss Webster infectados com amostras de líquido amniótico (LA) de gestantes com indicação sorológica de toxoplasmose..... 118
- Figura 2 - A e B. Taquizoítos de *Toxoplasma gondii* isolados de exsudato peritoneal de camundongos do tipo Swiss Webster infectados com amostras de líquido amniótico de gestantes. Formas: extracelulares e intracelulares 120

Figura 3 - A e B. Taquizoítos de <i>Toxoplasma gondii</i> extra e intracelulares de exsudato peritoneal (aumento: 400 e 1000 X) de camundongo inoculado com camada leucocitária de gestante em fase aguda.....	121
Figura 4 - A. Taquizoítos de <i>Toxoplasma gondii</i> em suspensão de cérebro (extensão) de camundongo infectado com suspensão leucocitária isolada de sangue de gestante em fase aguda de infecção.(microscopia óptica – 1000X. B – Cisto de <i>Toxoplasma gondii</i> encontrado em camundongo inoculado com camada leucocitária de sangue de gestante em fase aguda de infecção (Pesquisa em corte histológico, aumento de 1000X).....	122
Figura 5 A e B – Taquizoítos de <i>Toxoplasma gondii</i> em cultivo de células Vero em período de isolamento. Amostra de líquido amniótico com parasitos livres e no interior de células de descamação fetal (A: aumento 400X em microscópio de campo invertido e B: microscópio óptico em aumento de 1000 X).....	124
Figura 6- Monocamada de células Vero infectada com cepa de <i>Toxoplasma gondii</i> isolada de líquido amniótico de gestante com indicação clínica e laboratorial para Toxoplasmose (fase recente de Infecção). Período de Manutenção (concentração > 1X10 ⁶ parasitos/mL). Aumento 400X.....	125
Figura 7 – Fotomicrografia de taquizoítos de <i>Toxoplasma gondii</i> (microscópio de campo invertido 400X) no período de multiplicação dos parasitos em cultivo de células Vero com uma concentração média final de 6,15 X10 ⁷ parasitos/mL (10 Meses pós-inóculo inicial de amostra de líquido amniótico).....	126
Figura 8 - Comportamento dos isolados de amostras clínicas e de cepas referência (RH- <i>T. gondii</i> e NC-1- <i>N. caninum</i> , estabelecidas em cultivo celular e suas respectivas diluições.....	127
Figura 9 A - Formas extracelulares de taquizoítos de <i>Toxoplasma gondii</i> isolados de sangue e fluído de placenta, de gestante no pós parto. B - Formas intracelulares de taquizoítos de <i>Toxoplasma gondii</i> isolados de sangue e fluído de placenta, de gestante no pós parto. Imagens digitalizadas (microscopia óptica, aumento - 1000X).....	128
Figura 10 - A. Imagem de amostra de sangue de cordão umbilical, obtido logo após o parto (da gestante EPS). Presença de taquizoítos livres e intracelulares (suspensão em meio de eagle). B. Imagem de amostra de sangue de cordão umbilical, logo após o parto (da gestante KCB). Presença de taquizoítos livres e intracelulares (aumento de 400 e 1000X).....	129
Figura 11 – Taquizoítos observados em extensão de suspensão de tecido cerebral de camundongos infectados, destinados a pesquisa de cistos cerebrais (aumento – 1000 X).....	130
Figura 12 - Pseudo-cistos de <i>Toxoplasma gondii</i> (10µm) observados em cortes de tecido cerebral de camundongos infectados, e destinados a pesquisa de cistos cerebrais (aumento - 1000 X).....	131
Figura 13 A - Fotomicrografia de corte histológico de placenta da gestante (ERJ) em coloração hematoxilina e eosina (HE) em aumento de 1000X. Alguns pontos enegrecidos (necróticos) na área de cordão umbilical e vasos hiperêmicos, e perda de massa de tecido conjuntivo. B - Fotomicrografia de corte histológico de placenta da gestante (DAFS) em coloração hematoxilina e eosina (HE) em aumento de 1000X. Alguns pontos enegrecidos (necróticos) e áreas hiperêmicas.....	132

CAPÍTULO IV

- Figura 1: Amplificação do DNA extraído pelo método clássico (presença de rastros no gel), com os primers JW58 e 59 (gene *B1*). Perfil de banda Positiva: 301 bp..... 164
- Figura 2: Bandas visíveis e definidas (ausência de rastro no gel) após amplificação pela PCR (JW58 e JW59). Amostras extraídas pelo método *Salting Out* . Perfil eletroforético: 301 bp..... 165
- Figura 3: Amplificação do DNA (extraído por *Salting Out*), com os primers JW58 e 59 (gene *B1*). Perfil eletroforético: 301 bp..... 166
- Figuras 4: Produtos da reação em cadeia da polimerase da porção terminal 5' do *locus* SAG2 (A) e e 3' do mesmo *locus* (B) Perfil eletroforético para a porção 5' do *locus* SAG2: 241pb e digestão pela *Sau3AI*. Perfil eletroforético para a porção 3' do *locus* SAG2: 221pb e digestão pela *HhaI*..... 169
- Figura 5: Produtos da reação em cadeia da polimerase da porção terminal 5' do *locus* SAG2 (A) e e 3' do mesmo *locus* (B). Perfil eletroforético para a porção 5' do *locus* SAG2: 241pb e digestão pela *Sau3AI*. Perfil eletroforético para a porção 3' do *locus* SAG2: 221pb e digestão pela *HhaI*..... 170

LISTA DE TABELAS

CAPITULO I

Tabela 1 - Mecanismo de Ação das Drogas do Protocolo contra Toxoplasmose Congênita.....	27
Tabela 2 – A e B – Prevalência de toxoplasmose em gestantes, em diversos países. B – Prevalência de toxoplasmose em gestantes em diferentes regiões do Brasil com dados soroepidemiológicos por pesquisa de IgG	29 / 30
Tabela 3- Parâmetros Sorológicos para Diagnóstico da Toxoplasmose Congênita.....	37

CAPITULO II

Tabela 1 - Métodos Imunoenzimáticos utilizados para diagnóstico de Toxoplasmose durante o período da pesquisa sorológica (01/04/2003 – 31/07/2004) e respectivos valores de sensibilidade e especificidade informados pelos <i>Kits</i> comerciais.....	67
Tabela 2 – A: Teste <i>K</i> – Análise de Concordância. B: Análise de Concordância e Variabilidade Interensaios.....	69 / 70
Tabela 3 - Número de gestantes participantes do Programa Mãe Curitibana (n = 20.389), que realizaram pesquisa para as imunoglobulinas IgM ou IgG e pesquisa para ambas simultaneamente (IgM e IgG) e percentual associado aos resultados.....	73
Tabela 4 - Perfil imune-humoral relacionado ao exame de Avidéz (Avf / AVF) das gestantes (n= 13, 7,83%) que concordaram em participar da pesquisa relacionada a infecção toxoplásmica ao longo dos trimestres gestacionais.....	77
Tabela 5 - Média de Idade gestacional das gestantes por faixa etária em consulta prévia a amniocentese, por idade média (anos).....	78
Tabela 6 - Observações Clínicas registradas durante o procedimento de amniocentese acompanhado de ecografia e volume de líquido amniótico coletado para isolamento <i>in vivo</i> , <i>in vitro</i> e realização da reação em cadeia da polimerase (PCR) e do polimorfismo de fragmentos de DNA por restrição enzimática (RFLP-PCR).....	79
Tabela 7 - Dados Obstétricos das 13 gestantes com sorologia indicativa de toxoplasmose congênita, ao parto.....	81

CAPITULO III

Tabela 1 - Presença de Taquizoítos de <i>Toxoplasma gondii</i> (+) em amostra de líquido amniótico ricas em células de descamação fetal (LA) em suspensão direta e suspensão de sedimento pós-centrifugação (aumento - 200, 400 e 1000X).....	117
Tabela 2 - Concentração de taquizoítos de <i>Toxoplasma gondii</i> durante as 55 passagens intraperitoneais em camundongos submetidos a infecção com amostras de líquido amniótico de gestantes (n= 13) com indicação sorológica de toxoplasmose..	119
Tabela 3 - Isolamento, manutenção e crescimento de taquizoítos de <i>Toxoplasma gondii</i> em cultivo de células Vero, obtidos de amostras de líquido amniótico (n= 13) e camada leucocitária (n= 1) de gestantes com indicação sorológica de toxoplasmose (diluição utilizada – 1:2).....	123
Tabela 4 - Concentração de taquizoítos das cepas referência RH (<i>T. gondii</i>) e NC-1 (<i>N. caninum</i>) em cultivo de células Vero em meio de <i>Eagle</i> (MEM).....	124
Tabela 5 - Características de cultivos celulares a partir de cepas de <i>Toxoplasma gondii</i> isolados de líquido amniótico, sangue periférico anticoagulado de pacientes gestantes, e de cepa referência RH de <i>Toxoplasma gondii</i> e de NC-1 de <i>Neospora caninum</i>	126
Tabela 6 - Avaliação macroscópica e histopatológica de placentas de gestantes com diagnóstico clínico e laboratorial de toxoplasmose.....	133

CAPITULO IV

Tabela 1: Quantificação de DNA de <i>Toxoplasma gondii</i> extraído pelos métodos – Clássico (Fenol/Clorofórmio/Etanol) e <i>Salting Out</i> (NaCl 6M), concentração e perfil eletroforético no gel.....	161
Tabela 2: Parâmetros relacionados à extração de DNA pelos métodos: Clássico e <i>Salting Out</i> e padrão de bandas observadas por eletroforese em gel de agarose.....	161
Tabela 3: Tempo de execução para cada etapa de cada método de extração de DNA até a quantificação por eletroforese em gel de agarose.....	162
Tabela 4: Amplificação pela reação em cadeia da polimerase (<i>primers</i> JW58 e JW 59) de amostras de DNA extraídas por método clássico de extração e expressão de bandas amplificadas.....	163
Tabela 5 - Amplificação pela reação em cadeia da polimerase (com <i>primers</i> JW58 e 59) de amostras de DNA de taquizoítos de <i>T. gondii</i> em líquido amniótico, extraídas pelo método <i>Salting Out</i> e expressão de bandas amplificadas no gel.....	165

Tabela 6 - Amplificação das porções terminais 5' e 3' do gene <i>SAG2</i> pela técnica de "restriction fragment length polymorphisms" (RFLP-PCR), com de DNA de <i>T.gondii</i> obtido em amostras de líquido amniótico extraídas pelo método clássico.....	166
Tabela 7 - Análise espectrofométrica de concentração e grau de pureza das amostras de DNA (<i>T. gondii</i>) obtidas de líquido amniótico de gestantes, e extraídas pelos métodos Clássico e <i>Salting Out</i>	167
Tabela 8 - Genotipagem pela técnica de "restriction fragment length polymorphisms" (RFLP-PCR) e restrição enzimática em 13 amostras de DNA (<i>T. gondii</i>) obtidas de líquido amniótico e de camada leucocitária (sg) de gestantes, e extraídos pelo método <i>Salting Out</i> e expressão de bandas no gel.....	168

SUMÁRIO

Ficha da Biblioteca	ii
Banca Examinadora	iii
Agradecimentos	iv
Lista de Figuras	viii
Lista de Tabelas	xi
Lista de Abreviaturas e Símbolos	xvii
Resumo Geral	1
General Abstract	2
Prefácio	3
Objetivos	6
CAPÍTULO I – <i>Toxoplasma gondii</i>, toxoplasmose e métodos de diagnóstico	
laboratorial: uma revisão.....	8
Resumo.....	9
Abstract.....	10
Aspectos históricos da toxoplasmose.....	11
Classificação.....	12
Morfologia.....	13
Hospedeiros.....	16
Ciclo de vida.....	17
Contaminação humana.....	19
Patogenia.....	20
Tratamento das pacientes gestantes.....	24
Epidemiologia.....	28
Métodos diagnósticos da toxoplasmose: parasitológicos, sorológicos e moleculares.....	31
Referências bibliográficas.....	42

CAPÍTULO II – Soroprevalência de anticorpos <i>anti-Toxoplasma gondii</i> em mulheres gestantes atendidas pelo serviço público da cidade de Curitiba.....	57
Resumo.....	58
Abstract.....	59
Introdução.....	60
Material e métodos.....	65
Resultados.....	69
Discussão.....	82
Referências bibliográficas.....	93
CAPÍTULO III – Análise parasitológica de líquido amniótico e histopatológica de placenta de gestantes com indicação clínica e sorológica de toxoplasmose aguda.....	102
Resumo.....	103
Abstract.....	104
Introdução.....	105
Material e Métodos.....	107
Resultados.....	116
Discussão.....	134
Referências Bibliográficas.....	141
CAPÍTULO IV – Caracterização molecular de cepas isoladas de <i>Toxoplasma gondii</i> de gestantes com indicação clínica e laboratorial de toxoplasmose congênita.....	144
Resumo.....	145
Abstract.....	146
Introdução.....	147
Material e Métodos.....	150
Resultados.....	160
Discussão.....	171
Referências Bibliográficas.....	180

Conclusões	185
Perspectivas	187
Anexos	188

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

β	Beta (2- β Mercaptoetanol)
Ω .	Ohms
μ L	Microlitros
μ m	Micrômetros
4-MUP	4-Metil-umbeliferil-fosfato
A	Absorbância
A/T/C/G	Adenina, Timina, Citosina, Guanina
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
AP	Aglutinação de partículas
ATCC	American Type Culture Collection
Av	Avidez
Avf	Avidez fraca
AvF	Avidez forte
bp	Pares de base
BSA	Soro albumina bovina (<i>Bovine Serum Albumine</i>)
CDME	Centro de Diagnósticos Marcos Enrietti
CEE	Comunidade Econômica Européia
CEP-HC	Comissão de Ensino e Pesquisa do Hospital de Clínicas
CES-SMS	Comissão de Estudos e de Ética em pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde de Curitiba
CLIA	Ensaio quimioluminescente
DI	Informação sobre Drogas (<i>Drug Information</i>)
DMSO	Dimetil sulfoxido
DNA	Ácido desoxirribonucléico
dNTP	Desoxinucleosídeos trifosfatados (dATP, dTTP, dTGTP, dCTP, dUTP)
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ELIFA / ELFA	Imunoensaio fluorescente (<i>Enzyme Linked Immuno Fluorescent Assay</i>)
ELISA	Ensaio imunoenzimático (<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>)
EU	União Européia (<i>European Union</i>)
FMVZ-USP	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP
g	Gramas
g/L	Gramas por Litro
GP	Grau de pureza
HA	Hemaglutinação
HAG	Hemaglutinação passiva
HBsAg	Antígeno de superfície do vírus da Hepatite B
HC	Hospital de Clínicas
HCV	Vírus da Hepatite C
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HNSG	Hospital Nossa Senhora das Graças
IFI	Imunofluorescência Indireta
Ig	Imunoglobulina (Ig: A, E, G, M)
ISAGA	Imunoensaio de aglutinação (<i>Immunosorbent Agglutination Assay</i>)
K	Índice Kappa
Kb	Kilo base

LMC	Laboratório Municipal de Curitiba
LPM	Laboratório de Parasitologia Molecular
MEIA	Ensaio imunoenzimático de micropartículas (<i>Microparticle Enzyme Immuno Assay</i>)
mg/mL	Miligramas por mililitros
mL	Mililitros
mm	Milímetros
mM	Milimolar
MNSF	Maternidade Nossa Senhora de Fátima
<i>n</i>	Número total
NAT/TMA	Transcrição Mediada por Amplificação (<i>Nucleic Acid Transcription</i>)
nm	Nanômetros
OMS	Organização Mundial da Saúde
<i>p</i>	Nível- <i>p</i> (significância estatística)
PABA	Ácido <i>p</i> -amniobenzóico
PBS	Salina tamponada com fosfatos
PC	Parto Cesáreo
PCR	Reação em cadeia pela polimerase (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
POP	Procedimento Operacional Padrão
PV	Parto Vaginal
RAPD	DNA polimórfico amplificado de forma randômica
rDNA	Ácido desoxirribonucléico ribossomal
RFLP	Polimorfismo de fragmentos de DNA por restrição enzimática (<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>)
RFV	Valor de Fluorescência Relativa (<i>Relative Fluorescent Value</i>)
RLU	Unidades relativas de luz (<i>Relative Light Units</i>)
RNA	Ácido ribonucléico
SAG	Antígeno de superfície (<i>Surface Antigen</i>)
SDS	Sódio-duodecil-sulfato
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TE	Solução de TRIS-HCl e EDTA
TRIS	Tris(hidroximetil) aminometano
TRIS-HCl	Tris(hidroximetil) aminometano hidrocloreico
tRNA	RNA de transferência
U.V.	Ultra violeta
U/mL	Unidades por mililitro
UA	Unidades Aleatórias
UFPR	Universidade Federal do Paraná
UI	Unidades Internacionais
UNG	Uracil- <i>N</i> -glicosilase
US	Unidade de Saúde
USP	Farmacopéia Estadunidense (<i>United States Pharmacopeia</i>)
U.S.P.	Universidade de São Paulo
λ	Marcador de Massa Molecular <i>lambda</i>
μ g/mL	Microgramas por mililitro
μ M	Micromolar
σ	Desvio Padrão

Laboratório de Parasitologia Molecular-UFPR	LPM-Centro Politécnico-UFPR / Programa de Doutorado em Biotecnologia e Bioprocessos
Departamento: Patologia Básica	Procedimento Operacional (POP) – Instrução de Trabalho
Setor: Parasitologia	Título: Coleta e Armazenamento de Líquido Amniótico
Versão: 1.0	Indexação: Parasito 000/01 Página: 4 de 6

4.2

Equipe do setor de Tocoginecologia – Hospital de Clínicas (TCG/HC) recebe a paciente gestante, cadastra dados pessoais e histórico sorológico e clínico, em seguida procede com orientações específicas e informa sobre data e horário da amniocentese .

4.3

Equipe de TCG/HC comunica o Laboratório de Parasitologia Molecular – UFPR (LPM) sobre o procedimento e informa sobre data , horário e dados específicos da paciente (histórico clínico).

4.4

Equipe do LPM-UFPR registra as informações em prontuário técnico e prossegue com o preparo de Kit – coleta/armazenamento de líquido amniótico e POP (procedimento operacional padrão) específico e envia para a equipe do setor de TCG/HC.

4.5

Equipe do TCG/HC recebe o Kit de coleta/ armazenamento de líquido amniótico e POP técnico fornecidos pelo LPM-UFPR e fornece para a equipe do LPM-UFPR formulário com dados pessoais/laboratoriais/clínicos da paciente .

4.6

Paciente retorna ao setor de TCG/HC em data e horários conforme agendado.

4.7

Equipes de TCG/Ultrassom do HC prosseguem com a amniocentese e coleta e armazenamento do líquido amniótico conforme POP técnico do LPM-UFPR.

4.8

Equipe de TCG/HC comunica a equipe do LPM-UFPR sobre o material coletado .

Laboratório de Parasitologia Molecular-UFPR	LPM-Centro Politécnico-UFPR / Programa de Doutorado em Biotecnologia e Bioprocessos
Departamento: Patologia Básica	Procedimento Operacional (POP) – Instrução de Trabalho
Setor: Parasitologia	Título: Coleta e Armazenamento de Líquido Amniótico
Versão: 1.0	Indexação: Parasito 000/01 Página: 5 de 6

4.9

Equipe do LPMN/UFPR prossegue com a busca do material checando as condições de armazenamento (volume mínimo/temperatura/condições de estocagem) e retorna para o LPM.

4.10

Equipe do LPM prepara o material para outros procedimentos técnicos específicos: Inocular material em camundongos, Cultivo Celular Extração de DNA, PCR .

4.11

Equipe do LPM/UFPR comunica equipe de TCG/HC sobre os resultados laboratoriais da paciente.

4.12

Resultados são utilizados para cálculos estatísticos e avaliação de tese.

5.0 – Notificação Especial:

A paciente deverá ser informada sobre o experimento e posterior coleta de amostras de placenta e sangue no momento do parto e receber uma folha contendo nome(s) e telefone(s) da(s) equipe(s) envolvida(s) , para contato em período prévio ao parto. O ”documento de consentimento” para obtenção das amostras deverá ser preenchido e arquivado com a assinatura da paciente / representante legal (vide – em anexos: Consentimento). A equipe de Tocoginecologia / Ecografia deverão comunicar a equipe do LPM-UFPR sobre quaisquer outros exames ao longo da gestação que tenham significado clínico relevante.

6.0 – Significado Clínico: A amniocentese é necessária para a obtenção de amostras de líquido amniótico para fins de isolamento do parasita *“Toxoplasma gondii”* através de técnicas laboratoriais tais como: inoculação em camundongos , cultivo celular , extração de DNA e PCR.

Laboratório de Parasitologia Molecular-UFPR	LPM-Centro Politécnico-UFPR / Programa de Doutorado em Biotecnologia e Bioprocessos
Departamento: Patologia Básica	Procedimento Operacional (POP) – Instrução de Trabalho
Setor: Parasitologia	Título: Coleta e Armazenamento de Líquido Amniótico
Versão: 1.0	Indexação: Parasito 000/01 Página: 6 de 6

7.0 – Modelo de resultado: (amostra de LA submetida a PCR)

Resultado Positivo indica a presença do DNA do T.gondii na amostra pesquisada

Resultado Negativo indica a ausência do DNA do Tgondii na amostra pesquisada

8.0 – Interferentes:

Amostras Excessivamente Hemolisadas

Amostras Estocadas fora do prazo de validade e condições de refrigeração inadequadas

Resultados Falso-Negativos: resíduos de reagentes durante procedimento de extração de DNA.

Resultados Falso-Positivos: contaminação por aerossóis (amplicons).

9.0 – Biossegurança:

Utilizar proteção individual: óculos acrílicos de proteção, avental de mangas longas e luvas de procedimentos após o manuseio das amostras, retirar as luvas e lavar as mãos com água e sabão. Desprezar material descartável em recipiente adequado (lixo hospitalar/descartex)

10.0 – Arquivamento: Livro de Registro /Prontuário para posterior transferência de dados em sistema informatizado (LPM-UFPR – Estatística)

11.0 – Confidencialidade: Dados pertinentes as pacientes serão mantidos em sigilo, conforme normas de conduta ética (vide CEP-HC).

12.0 – Anexos: (Incluir “Documento de Consentimento”)

Laboratório de Parasitologia Molecular-UFPR	LPM-Centro Politécnico-UFPR / Programa de Doutorado em Biotecnologia e Bioprocessos
Departamento: Patologia Básica	Procedimento Operacional (POP) – Instrução de Trabalho
Setor: Parasitologia	Título: Coleta e Armazenamento de Líquido Amniótico
Versão: 1.0	Indexação: Parasito 000/01 Página: 4 de 6

4.2

Equipe do setor de Tocoginecologia – Hospital de Clínicas (TCG/HC) recebe a paciente gestante, cadastra dados pessoais e histórico sorológico e clínico, em seguida procede com orientações específicas e informa sobre data e horário da amniocentese .

4.3

Equipe de TCG/HC comunica o Laboratório de Parasitologia Molecular – UFPR (LPM) sobre o procedimento e informa sobre data , horário e dados específicos da paciente (histórico clínico).

4.4

Equipe do LPM-UFPR registra as informações em prontuário técnico e prossegue com o preparo de Kit – coleta/armazenamento de líquido amniótico e POP (procedimento operacional padrão) específico e envia para a equipe do setor de TCG/HC.

4.5

Equipe do TCG/HC recebe o Kit de coleta/ armazenamento de líquido amniótico e POP técnico fornecidos pelo LPM-UFPR e fornece para a equipe do LPM-UFPR formulário com dados pessoais/laboratoriais/clínicos da paciente .

4.6

Paciente retorna ao setor de TCG/HC em data e horários conforme agendado.

4.7

Equipes de TCG/Ultrassom do HC prosseguem com a amniocentese e coleta e armazenamento do líquido amniótico conforme POP técnico do LPM-UFPR.

4.8

Equipe de TCG/HC comunica a equipe do LPM-UFPR sobre o material coletado .

Laboratório de Parasitologia Molecular-UFPR	LPM-Centro Politécnico-UFPR / Programa de Doutorado em Biotecnologia e Bioprocessos
Departamento: Patologia Básica	Procedimento Operacional (POP) – Instrução de Trabalho
Setor: Parasitologia	Título: Coleta e Armazenamento de Líquido Amniótico
Versão: 1.0	Indexação: Parasito 000/01 Página: 5 de 6

4.9

Equipe do LPMN/UFPR prossegue com a busca do material checando as condições de armazenamento (volume mínimo/temperatura/condições de estocagem) e retorna para o LPM.

4.10

Equipe do LPM prepara o material para outros procedimentos técnicos específicos: Inocular material em camundongos, Cultivo Celular Extração de DNA, PCR .

4.11

Equipe do LPM/UFPR comunica equipe de TCG/HC sobre os resultados laboratoriais da paciente.

4.12

Resultados são utilizados para cálculos estatísticos e avaliação de tese.

5.0 – Notificação Especial:

A paciente deverá ser informada sobre o experimento e posterior coleta de amostras de placenta e sangue no momento do parto e receber uma folha contendo nome(s) e telefone(s) da(s) equipe(s) envolvida(s) , para contato em período prévio ao parto. O ”documento de consentimento” para obtenção das amostras deverá ser preenchido e arquivado com a assinatura da paciente / representante legal (vide – em anexos: Consentimento). A equipe de Tocoginecologia / Ecografia deverão comunicar a equipe do LPM-UFPR sobre quaisquer outros exames ao longo da gestação que tenham significado clínico relevante.

6.0 – Significado Clínico: A amniocentese é necessária para a obtenção de amostras de líquido amniótico para fins de isolamento do parasita *“Toxoplasma gondii”* através de técnicas laboratoriais tais como: inoculação em camundongos , cultivo celular , extração de DNA e PCR.

Laboratório de Parasitologia Molecular-UFPR	LPM-Centro Politécnico-UFPR / Programa de Doutorado em Biotecnologia e Bioprocessos
Departamento: Patologia Básica	Procedimento Operacional (POP) – Instrução de Trabalho
Setor: Parasitologia	Título: Coleta e Armazenamento de Líquido Amniótico
Versão: 1.0	Indexação: Parasito 000/01 Página: 6 de 6

7.0 – Modelo de resultado: (amostra de LA submetida a PCR)

Resultado Positivo indica a presença do DNA do T.gondii na amostra pesquisada

Resultado Negativo indica a ausência do DNA do Tgondii na amostra pesquisada

8.0 – Interferentes:

Amostras Excessivamente Hemolisadas

Amostras Estocadas fora do prazo de validade e condições de refrigeração inadequadas

Resultados Falso-Negativos: resíduos de reagentes durante procedimento de extração de DNA.

Resultados Falso-Positivos: contaminação por aerossóis (amplicons).

9.0 – Biossegurança:

Utilizar proteção individual: óculos acrílicos de proteção, avental de mangas longas e luvas de procedimentos após o manuseio das amostras, retirar as luvas e lavar as mãos com água e sabão. Desprezar material descartável em recipiente adequado (lixo hospitalar/descartex)

10.0 – Arquivamento: Livro de Registro /Prontuário para posterior transferência de dados em sistema informatizado (LPM-UFPR – Estatística)

11.0 – Confidencialidade: Dados pertinentes as pacientes serão mantidos em sigilo, conforme normas de conduta ética (vide CEP-HC).

12.0 – Anexos: (Incluir “Documento de Consentimento”)

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)