



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Oswaldo Cruz

Laboratório de Referência Nacional para Esquistossomose – Malacologia



LRNEM

INSTRUÇÕES PARA ENVIO DE AMOSTRAS DE MOLUSCOS

O Laboratório de Referência Nacional para Esquistossomose – Malacologia (LRNEM) recebe amostras de moluscos límnicos (dulcícolas) e terrestres coletados em todo o território brasileiro para a realização de ensaios parasitológicos e a identificação de espécies de importância médica. As amostras são encaminhadas principalmente por Secretarias Estaduais e Municipais de Saúde, Centros de Controle de Zoonoses, Prefeituras e Laboratórios Centrais.

Seguem abaixo as informações sobre os serviços prestados pelo LRNEM e as instruções para a embalagem e o envio dos moluscos.

Serviços de Referência

- Determinação taxonômica de moluscos (identificação das espécies de moluscos)

A identificação de moluscos límnicos ou terrestres é feita através dos métodos de conchiliologia (análise das características da concha) e de dissecação anatômica das partes moles para a observação de estruturas diagnósticas. Se necessário, este serviço de referência pode ser realizado através de métodos moleculares de reação em cadeia da polimerase (PCR) e sequenciamento genético.

- Ensaio parasitológico para a detecção de agente etiológico *Schistosoma mansoni*

No ensaio parasitológico para a detecção de formas larvais de *S. mansoni* são utilizados os métodos de Exposição à Luz e Esmagamento. Se necessário, este serviço de referência pode ser realizado através de métodos moleculares de reação em cadeia da polimerase (PCR).

- Ensaio parasitológico para a detecção de *Angiostrongylus* spp.

No ensaio parasitológico realizado em moluscos terrestres para a detecção de nematódeos *Angiostrongylus* spp. são empregados os métodos de digestão artificial de moluscos (Wallace & Rosen 1969 – modificado), e os métodos moleculares de reação em cadeia da polimerase (PCR) e sequenciamento genético.

Crítérios para aceitação de amostras

A identificação dos moluscos e o ensaio parasitológico são realizados apenas com os animais vivos. Caso os moluscos cheguem mortos, a amostra **não** será analisada e o material será descartado.

Av. Brasil, 4.365 Pavilhão Adolpho Lutz Manguinhos CEP 21040-900 Rio de Janeiro – RJ Telefone: 55 21 2562 1305 2562 1209

e-mail: labmal@ioc.fiocruz.br

Form LRNEM 027 004 rev02

Página 1 de 7



A identificação das espécies de moluscos é feita a partir de exemplares adultos, fase em que as estruturas anatômicas do sistema reprodutor estão desenvolvidas. Por isso, se a amostra contiver animais muito jovens, eles serão identificados até o menor nível taxonômico possível.

Quantidade de moluscos por envio

- **Moluscos Límnicos**

Quantidade de amostras recomendada por cliente: no máximo dez amostras por mês, sendo uma amostra por coleção hídrica/ponto de coleta.

- **Moluscos Terrestres**

Devido às características dos ensaios parasitológicos para moluscos terrestres, a quantidade por cliente é de, no máximo, 40 exemplares de moluscos por mês. A remessa pode conter uma ou mais amostras, desde que a soma de exemplares não ultrapasse o limite máximo. Caso a remessa contenha mais do que 40 exemplares, o excedente será descartado.

O cliente pode enviar simultaneamente amostras de moluscos límnicos e terrestres, seguindo as especificações acima.

Em casos excepcionais, como surto ou amostras coletadas em localidades com casos humanos suspeitos ou confirmados dos agravos esquistossomose ou angiostrongilíases, a quantidade de exemplares ou amostras enviada poderá ser superior aos limites mensais citados acima, devendo ser acordado previamente com a Coordenação do LRNEM.

Para o envio de mais de uma amostra na mesma remessa, deve-se embalar e identificar separadamente cada amostra. Recomenda-se que na embalagem de cada amostra haja informações sobre a localidade, a data e o número da coleta, compatíveis com o documento de encaminhamento.

Quando enviar as amostras

As amostras devem ser enviadas preferencialmente no início da semana, para evitar que o material chegue durante o final de semana e os moluscos permaneçam embalados por muito tempo.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Oswaldo Cruz

Laboratório de Referência Nacional para Esquistossomose – Malacologia



LRNEM

Documento de Encaminhamento

Para que a amostra seja analisada no LRNEM é necessário que o cliente envie o documento de encaminhamento, podendo ser carta, ofício ou *e-mail*, com as seguintes informações:

- 1) Dados do cliente: nome da instituição, endereço, telefone, *e-mail* e nome do responsável por receber o resultado da análise.
- 2) Serviço(s) solicitado(s): o cliente pode solicitar os dois serviços (ensaio parasitológico e identificação dos moluscos) ou apenas um deles. Na ausência dessa informação, serão realizados os dois serviços.
- 3) Dados de procedência da amostra: local da coleta (rua, bairro, localidade, município e estado, se houver, coordenadas geográficas), data da coleta, nome dos coletores. Informações sobre as características do local de coleta, tais como: ambiente urbano ou rural, proximidade de áreas de proteção ambiental, terreno baldio etc., podem ser incluídas.

Dados incompletos, incorretos, ilegíveis ou desatualizados poderão comprometer a entrega dos resultados das análises. Neste caso, o não recebimento dos resultados será de responsabilidade do cliente.

Expediente

O LRNEM funciona de segunda-feira a sexta-feira, das 8:00 h às 17:00 h.

e-mail: labmal@ioc.fiocruz.br

Endereço para Envio das Amostras

FIOCRUZ

Instituto Oswaldo Cruz

Laboratório de Referência Nacional para Esquistossomose – Malacologia

Av. Brasil, nº 4365, Pavilhão Adolpho Lutz, Bairro: Manguinhos CEP: 21040-900 – Rio de Janeiro/RJ

Aos cuidados de Monica Ammon Fernandez e Silvana Carvalho Thiengo

Telefones: 21 2562-1234 / 2562-1305 / 2562-1209



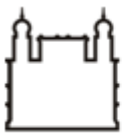
COMO ACONDICIONAR AS AMOSTRAS PARA O ENVIO

• Moluscos límnicos

O uso de EPI (luvas e botas plásticas) é necessário durante a coleta e o manuseio dos moluscos. Embalar os animais, no máximo, um dia antes do envio.

Antes de embalar, observar se os moluscos estão vivos, colocando os animais numa lâmina de água para ver se estão se movimentando. Evitar a exposição do material a moscas durante todo o processo de embalagem, para evitar que ovos sejam depositados e ocasione a morte dos moluscos.

- 1) Umedecer levemente um pedaço de gaze de algodão (cerca de 30 cm de comprimento x 20 cm de largura) com água. A gaze deve estar praticamente seca.
- 2) Estender a gaze sobre superfície plana e enfileirar os moluscos, mantendo uma distância de aproximadamente 1 cm para exemplares pequenos (menores que 0,5 cm) e 2 cm para os maiores, como *Biomphalaria*. Não colocar os moluscos perto das bordas da gaze – manter distância de aproximadamente 3 cm em relação à borda.
- 3) Quando a fileira de moluscos estiver pronta, dobrar a gaze sobre os exemplares. Fazer novas fileiras com os espécimes, organizando da mesma forma que a primeira. Entre a última fileira e a borda, deixar um espaço maior para que a gaze restante envolva todo o cilindro ao dobrá-la.
- 4) Quando houver muitos moluscos por amostra, fazer vários cilindros. Cada amostra deve ser colocada dentro de um saco plástico capaz de envolver todo o cilindro, evitando que a gaze perca a umidade. Nunca colocar amostras diferentes no mesmo cilindro e no saco plástico envolvendo o cilindro.
- 5) Identificar cada amostra, informando: localidade, data da coleta, coletores, tipo de criadouro etc. Estas informações devem estar de acordo com o documento de encaminhamento. A identificação não deve ser colocada em contato com a gaze; devendo ser afixada no saco plástico, externamente.
- 6) Acondicionar a amostra em embalagem adequada para o transporte de material biológico. Para o transporte das amostras biológicas as normas de biossegurança vigentes devem ser rigorosamente obedecidas, de acordo com as normas de acondicionamento e transporte de substâncias infecciosas da IATA.



- 7) Caso o recipiente seja grande em relação ao tamanho da amostra, preencher os espaços com isopor ou jornal, para evitar colisões dos moluscos com as laterais da embalagem. Não perfurar a embalagem e nem submeter à refrigeração durante o transporte.

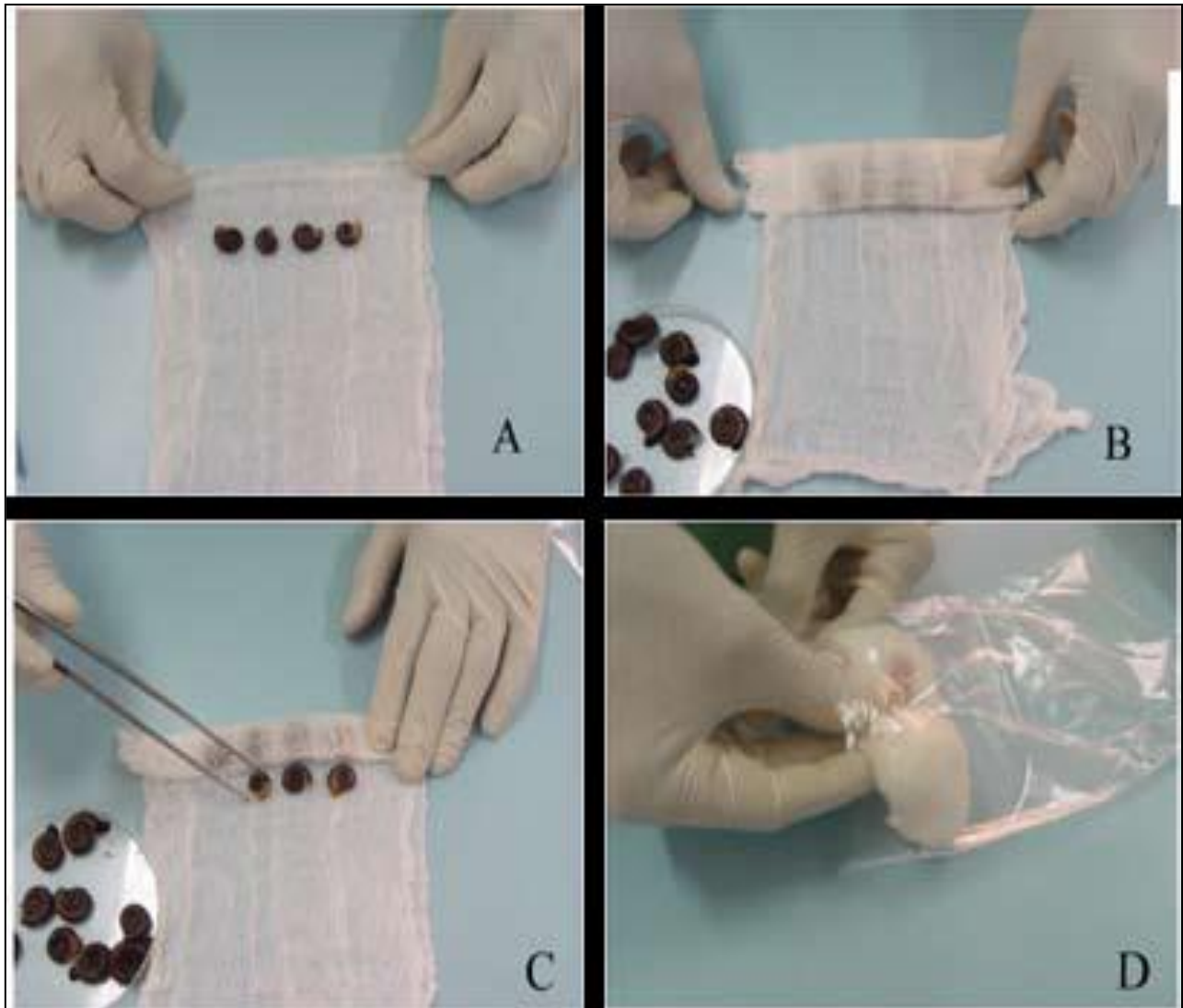


Figura 1. De A a D: etapas para embalar moluscos límnicos.

Nota: Não é recomendável utilizar esse método de embalagem para espécimes de ancilídeos, os quais devem ser transportados com um filete de água do criadouro, em frascos hermeticamente fechados. Espécimes de *Pomacea* devem ser embalados individualmente em gaze seca ou papel absorvente e, em seguida, postos em saco plástico identificado e bem vedado.



- **Moluscos terrestres**

O uso de EPI (luvas e botas) é necessário durante a coleta e o manuseio dos moluscos. Embalar os animais, no máximo, um dia antes do envio.

Durante a coleta do molusco exótico *Achatina fulica*, caracol africano, observar atentamente se todos exemplares pertencem a essa espécie, a fim de evitar a coleta e remessa de espécies nativas. Não é permitido o envio de amostra em embalagens de vidro, caixa de papelão e soltos em sacos plásticos.

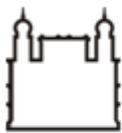
- 1) Antes de embalar a amostra, observe se os moluscos estão vivos.
- 2) Embrulhar separadamente cada exemplar com gaze completamente seca ou papel toalha. Moluscos menores do que 3 cm podem ser agrupados e embrulhados juntos. Depois de embrulhados, colocar em saco plástico (identificado), separado por amostra.
- 3) Identificar cada amostra, informando: localidade, data da coleta, coletores, tipo de criadouro (por exemplo: terreno baldio, área de mata, praça, residência) etc. Estas informações devem estar de acordo com o documento de encaminhamento.
- 4) Acondicionar a amostra em embalagem adequada para o transporte de material biológico. Para o transporte das amostras biológicas as normas de biossegurança vigentes devem ser rigorosamente obedecidas, de acordo com as normas de acondicionamento e transporte de substâncias infecciosas da IATA.
- 5) Caso o recipiente seja grande em relação ao tamanho da amostra, preencher os espaços com isopor ou jornal, para evitar colisões dos moluscos com as laterais da embalagem. Não perfurar a embalagem e nem submeter à refrigeração durante o transporte.

Devolução de Amostras

Devido às características dos métodos “Digestão Artificial” e “Esmagamento”, os moluscos têm as conchas e as partes moles destruídas e, no final do ensaio parasitológico, são descartados.

Após os ensaios de determinação taxonômica (identificação do molusco) e de exposição à luz, as amostras podem ser preservadas. Caso haja interesse, o cliente pode solicitar a devolução da amostra no próprio documento de encaminhamento ou enviar *e-mail* ao laboratório.

As amostras ficam disponíveis para devolução por 30 dias, a partir da liberação dos resultados (entrega do Relatório de Ensaio). Após esse período, elas são descartadas ou



depositadas na Coleção de Moluscos do Instituto Oswaldo Cruz, a critério da Coordenação do LRNEM.

Devolução da Embalagem

As embalagens são limpas, descontaminadas e armazenadas no LRNEM durante 30 dias. Após esse prazo, elas são descartadas. Caso haja interesse, o cliente deve solicitar a devolução da embalagem no próprio documento de encaminhamento ou enviar *e-mail* ao laboratório.

Prazo para a liberação dos resultados

O LRNEM libera os resultados em um documento denominado Relatório de Ensaio, que pode ser enviado por *e-mail*, correios ou entregue pessoalmente. O laboratório não libera resultados por telefone. Os prazos para a liberação dos resultados seguem no quadro abaixo.

Agravo	Ensaio – Método	Prazo máximo
Esquistossomose (<i>Schistosoma mansoni</i>)	Determinação taxonômica de moluscos límnicos – dissecação anatômica e conquiliologia	30 dias consecutivos
	Ensaio parasitológico – Exposição à luz	30 dias consecutivos
	Ensaio parasitológico – Esmagamento	30 dias consecutivos
	Determinação taxonômica de moluscos límnicos - Diagnóstico molecular através de PCR e Sequenciamento genético	45 dias consecutivos
	Ensaio parasitológico - Diagnóstico molecular através de PCR e Sequenciamento genético	45 dias consecutivos
Angiostrongilíases (<i>Angiostrongylus</i> spp.)	Determinação taxonômica de moluscos terrestres – dissecação anatômica e conquiliologia	30 dias consecutivos
	Ensaio parasitológico – Digestão artificial de moluscos e Diagnóstico molecular através de PCR e Sequenciamento genético	45 dias consecutivos
	Determinação taxonômica de moluscos terrestres - Diagnóstico molecular através de PCR e Sequenciamento genético	45 dias consecutivos