

RIBAC

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

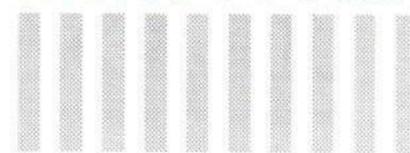
SUMÁRIO

Estudos sobre a variação interobservadores em citologia cérvico-vaginal	239
<i>Carla Filippin, Leila Maria Borsarini Felipe, Aguinaldo José do Nascimento & Maria Suely Soares Leonart</i>	
Inter-observer studies variation in cervical smear cytological examinations	
Proposta de um modelo de padronização para o exame sumário de urina	243
<i>Queiroz, M. G. R., Alencar, N. M. N & Melo, C. L.</i>	
Proposal to standardization model for the urinalysis	
Avaliação da função plaquetária de doadores de sangue	249
<i>Neiva, T.J.C.; Brocardo, G.; Ferreira, J.S.; Ferreira, V.L & Castro, C.E.S.</i>	
Assessment of the platelet function of blood donors	
Comparação do crescimento em corda do bacilo da tuberculose nos caldos sangue lisado seletivo e Middlebrook	253
<i>Luiz Roberto Bigão Giacomelli, César Helbel, Roger Leandro Nunes Ogassawara, Angela Maria Werneck Barreto & Celso Luiz Cardoso</i>	
Comparison of the growth in cord of the tubercle bacilli in a selective lysed blood broth and Middlebrook medium	
Artigo de revisão	
Esteróides anabolizantes e suas alterações em análises clínicas	255
<i>Estefânia Perin Fonseca & Flavia Valladão Thiesen</i>	
Anabolic steroids and its alterations in clinical chemistry	
Desempenho do teste ELISA-"conta" na rotina laboratorial para o diagnóstico da neurocisticercose humana	261
<i>José Edson Paz da Silva; Adelaide José Vaz; Maria de Lourdes Amud Ali dos Reis; Marinês Lavall Dias & João Baptista dos Reis Filho</i>	
Performance of ELISA-"bead" test for human cysticercosis diagnosis in laboratory routine	
Métodos laboratoriais disponíveis para o diagnóstico da Filariose Linfática	265
<i>Abraham Rocha</i>	
Available laboratorial diagnostic methods of the Lymphatic Filariasis	
Avaliação dos níveis plasmáticos do fragmento 1+2 da protrombina (F₁₊₂) na Doença Hipertensiva Específica da Gravidez (DHEG)	271
<i>Luci Maria Sant'Ana Dusse, Lauro Mello Vieira & Maria das Graças Carvalho</i>	
Prothrombin fragment 1+2 (F ₁₊₂) evaluate from plasma levels in pregnant women showing pre-eclampsia	
Prevalência de vaginites específicas e inespecíficas em mulheres na pós-menopausa	275
<i>Maria Salete Rebouças Cardoso; Eleni Souto Nóbrega Ramos; Ana D'arc Pessoa de Castro; Diana Karla Nobrega Ramos; Dany Geraldo Kramer Cavalcanti e Silva & Geraldo Barroso Cavalcanti Júnior</i>	
Prevalence of non-specific and specific vaginitis in postmenopause women	
Avaliação hormonal, bioquímica e citológica em mulheres com idade entre 40 e 55 anos, sem reposição hormonal, no interior de Pernambuco-Brasil	279
<i>Maria Teresa Jansem de Almeida Catanho; Carlos Eduardo de Queiroz Lima & Jacinto da Costa Silva Neto</i>	
Hormonal, biochemical and cytological evaluation of women between 40 and 55 years old, without hormonal replacement therapy, in the rural area of the state of Pernambuco-Brazil	
Isolamento de amostras multirresistentes de <i>Staphylococcus aureus</i> em estetoscópios usados no ambiente hospitalar	285
<i>Bismark Azevedo Cruz de Araujo, Alessandra Lages de Oliveira & Lauro Santos Filho</i>	
Isolation of multi-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> strains from stethoscopes used in nosocomial environment	
Exame parasitológico de fezes: estudo comparativo entre os métodos Coprotest, MIFC, Baermann e Kato	289
<i>Rômulo Teixeira de Mello, Miriam Oliveira e Rocha & Maria da Conceição Carneiro Gonçalves Moreira</i>	
Parasitologic feces analysis: a comparative study using Coprotest, MIFC, Baermann and Kato methods	
Índice remissivo	292

4

VOLUME 32

2000



Encerra-se mais um milênio, marcado por um alto grau de desenvolvimento e por grandes descobertas, que propiciaram um mundo muito melhor para toda a humanidade. As descobertas da aviação, dos teleguiados e da comunicação falada, escrita e por imagem que possibilitaram diminuir as distâncias e aproximar mais a humanidade, permitindo ao homem conhecer seu satélite, ir a um novo planeta e construir a primeira casa extraterrestre.

Na área da medicina, os progressos foram extraordinários. Assim, as descobertas das vacinas que permitiram a profilaxia e a erradicação de doenças como a varíola e a poliomielite; da descoberta da penicilina e de muitos medicamentos modernos e mais eficazes. Também, nesta área, constatamos o desenvolvimento e transformações tecnológicas e científicas importantes nas análises clínicas, onde na bioquímica passou-se dos simples colorímetros aos equipamentos automatizados permitindo a realização de mais de 2.000 exames/hora; do emprego dos kits propiciando maior precisão e exatidão. Ainda nessa área, verificamos a evolução da imunologia, da biologia molecular, do emprego de sondas genéticas em microbiologia, do conhecimento avançado do genoma, das clonagens e de muitos outros avanços.

Em síntese, os benefícios legados neste milênio foram visíveis e de grande valia para a humanidade em todas áreas do conhecimento.

Para os analistas clínicos, há ainda fatos e datas marcantes que desejamos destacar. Em 28 de novembro de 1967, vários profissionais se reuniram e fundaram a Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – SBAC, uma associação científica para divulgar as modernas tecnologias e defender os legítimos direitos dos profissionais legalmente habilitados a exercer a especialidade, pois até esta data era vedada esta autorização, apesar de constar na legislação desde 1931.

Como não podia deixar de ser, a SBAC evoluiu e acompanhou o progresso. Criou em 1969 a Revista Brasileira de Análises Clínicas para divulgação da especialidade; em 1971 passou a organizar os Congressos Brasileiros de Análises Clínicas para o encontro, intercâmbio de experiências e transmissão de tecnologias aos profissionais, tendo já realizado 27 congressos em quase todas as capitais do país; em 1972 estabeleceu o regulamento para outorga do Título de Especialista em Análises Clínicas para profissionais aprovados em concurso de provas escritas, orais e práticas; em 1973 participou da fundação da Confederação Latinoamericana de Bioquímica Clínica – COLABIOCLI; em 1976 criou o Programa Nacional de Controle de Qualidade – PNCQ o qual é hoje o maior e melhor Programa de Proficiência em Análises Clínicas da América Latina; em 1998 criou o Departamento de Inspeção e Credenciamento da Qualidade – DICQ, para credenciamento dos Laboratórios Clínicos do país em sistemas da qualidade.

Atualmente, a SBAC é filiada a várias organizações nacionais e internacionais de prestígio na área, tendo recebido da Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT a incumbência da coordenação do CB-36 e da Associação Mercosul de Normalização o CSM-20.

Com este rápido relato, não citando outras inúmeras atividades realizadas, evidenciamos que nossa Sociedade sempre se encontra alerta às novidades científicas e tecnológicas e através de seus órgãos de divulgação as transmite aos seus associados.

Esta Sociedade agradece a todos que colaboraram para o seu engrandecimento, neste milênio que finda, desejando que o novo milênio seja pleno de felicidades e que a prosperidade sempre esteja presente.

Dr. Willy Carlos Jung
Presidente da SBAC

Diretor Responsável

Prof. Mateus Mandu de Souza

Vice-Diretor

Prof. João Ciribelli Guimarães

Este periódico é o órgão oficial da SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS - SBAC, e destinado à divulgação de trabalhos científicos, observações pessoais, informações de interesse geral em defesa da classe dos que militam no ramo das análises clínicas, constituindo elo de união dos profissionais e fonte de estímulo na aquisição de conhecimentos que melhor os capacitem no desempenho da profissão, em benefício da comunidade.

Assinatura anual: Exterior US\$ 60.

Consultores Científicos

Bioquímica

Dr. Álvaro Largura (PR), Dr. Frederico Guilherme Schneider (RS)
Prof. Marcelo Quintão Mendes (MG)

Citologia

Prof. Ely Chaves (PB), Profª Rita Maria Amparo Bacelar Palhano (MA),
Prof. Sebastião Ferreira Marinho (AM), Dr. Celso Rubens Loques Mendonça (RJ)

Controle de Qualidade

Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG), Dr. José Abol Corrêa (RJ), Dr. Luís Fernando Barcelos (RS)

Hematologia

Dr. Jorge Fernando Teixeira Soares (RJ), Dr. Willy Carlos Jung (SC)

Microbiologia

Dr. Antônio Márcio Lopes (MG), Prof. Mateus Mandu de Souza (RJ),
Prof. Raimundo Diogo Machado (RJ), Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ),
Dr. Estevão José Colnago (RJ)

Imunologia

Prof. Moisés Abraham Fuks (RJ), Prof. Paulo Jaconi Saraiva (RS)

Parasitologia

Dr. Antônio Pedro Soares (MG), Prof. Paulo S. Minami (SP)

Indexação: LILACS - Literatura Latinoamericana e do Caribe em Ciências da Saúde



SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS®

FILIAÇÃO

IFCC – INTERNATIONAL FEDERATION OF CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE
COLABIOCLI – CONFEDERACIÓN LATINOAMERICANA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS
NCCLS – NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS
ILAC – INTERNATIONAL LABORATORY ACREDITATION CORPORATION
AMN – ASOCIACION MERCOSUR DE NORMALIZACIÓN
ONA – ORGANIZAÇÃO NACIONAL DE ACREDTAÇÃO

Rua Vicente Licínio, 95 • Tel. (0xx21)264-4449 • Fax (0xx21)204-0245 • Rio de Janeiro • RJ • 20270-902
<http://www.sbac.org.br> • e-mail: geral@sbac.org.br

Diretoria

Presidente

Dr. Willy Carlos Jung

Vice-Presidente

Dr. Francisco Edson Pacifici Guimarães

Secretário Geral

Drª Elvira Maria Loureiro Colnago

Secretário

Drª Ulisses Tuma

Tesoureiro

Dr. Estevão José Colnago

Tesoureiro Adjunto

Dr. Antonio Ferreira Santos

MEMBROS DO CONSELHO FISCAL

Titulares: Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ), Prof. José Ronaldo Cardoso (MG),
Dr. Tarcísio de Oliveira Moura (PE) – **Suplentes:** Prof. Darci Araújo Correia (CE),
Prof. Carlos Adalberto Camargo Sannazzaro (SP), Dr. Reginaldo Fusaro Simões (SC).

COMISSÃO DE NORMAS E HABILITAÇÃO

Coordenação: Drª Elvira Maria Loureiro Colnago (RJ)
Membros: Prof. Mateus Mandu de Souza (RJ), Dr. Luiz Fernando Barcelos (RS),
Prof. Raimundo Diogo Machado (RJ), Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ), Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ), Prof. Carlos Adalberto de Camargo Sannazzaro (SP), Dr. Willy Carlos Jung (SC), Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG), Prof. Durval Mazzei Nogueira (SP), Prof. Darci Araújo Correia (CE), Dr. Estevão José Colnago (RJ).

DIRETOR DE CURSOS

Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ)

COMISSÃO DE RELACIONAMENTO

Universitário: Prof. Jorge Fernando Teixeira Soares, Profª Maria Helena Braga,
Prof. Paulo Minami (SP).

IFCC: Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ), Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG).
COLABIOCLI: Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG), Dr. José Abol Corrêa (RJ).

MERCOSUL: Dr. Álvaro Largura (PR).

Governamental: Dr. Willy Carlos Jung (SC), Dr. José Abol Corrêa (RJ), Prof. Carlos Adalberto de Camargo Sannazzaro (SP), Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ).

COMISSÃO DE AVALIAÇÃO

PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE

Coordenação: Dr. José Abol Corrêa (RJ).
Membros: Prof. Mateus Mandu de Souza (RJ), Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ),
Prof. Raimundo Diogo Machado (RJ), Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ), Dr. Estevão José Colnago (RJ), Dr. Celso Rubens Loques Mendonça (RJ), Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG), Drª Thais Lisboa Machado (RJ), Drª Elvira Maria Loureiro Colnago (RJ),
Dr. Paulo Murillo Neufeld (RJ).

COMISSÃO DE CONGRESSOS

Coordenação: Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG)
Membros: Dr. José Abol Corrêa (RJ), Dr. Álvaro Largura (PR), Prof. Carlos Adalberto de Camargo Sannazzaro (SP), Dr. Willy Carlos Jung (SC), Dr. Ulisses Tuma (GO).

INFORMATIVO DA SBAC

Coordenação: Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG).
Membros: Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ), Dr. Antonio Jaguaribe Neto (RJ),
Drª Virgínia Frota de Matos (RJ), Prof. Raimundo Diogo Machado (RJ), Dr. Estevão José Colnago (RJ), Dr. José Abol Corrêa (RJ), Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ),
Dr. Willy Carlos Jung (SC).

CONSELHO DELIBERATIVO - 2000

Membros Natos: Dr. Ney Haushahn (RJ), Prof. João Ciribelli Guimarães (RJ), Dr. José Abol Corrêa (RJ), Prof. Mateus Mandu de Souza (RJ), Dr. Evanyr Seabra Nogueira (RJ), Prof. Ediláudio Luna de Carvalho (PB), Prof. Antônio José Marques D'Almeida (RS), Dr. Nadilson da Silva Cunha (RJ), Dr. Humberto Marques Tibúrcio (MG).

REGIONAIS DA SOCIEDADE

Bahia - Presidente: Dr. Eric Ettinger de Menezes; **Ceará - Presidente:** Dr. Manoel Alves Maia Filho; **Distrito Federal - Presidente:** Dr. Manoel Aureliano Junior; **Goiás - Presidente:** Dr. Elias José Cury Júnior; **Minas Gerais - Presidente:** Dr. Vanderley Eustáquio Machado; **Paraná - Presidente:** Dr. Julio Cezar Merlim; **Pernambuco - Presidente:** Dr. Tarcísio de Oliveira Moura; **Rio Grande do Norte - Presidente:** Profª Gerusa Maria Caldas Maia; **Rio Grande do Sul - Presidente:** Dr. Irineu Keiserman Grinberg.

DELEGADOS DA SOCIEDADE

Alagoas: Dr. José Pereira Mendes Júnior; **Amazonas:** Prof. Sebastião Ferreira Marinho; **Espirito Santo:** Dr. Henrique Tommasi Neto; **Maranhão:** Profª Rita Maria do Amparo Bacelar Palhano; **Mato Grosso:** Dr. Jerolino Lopes de Aquino; **Mato Grosso do Sul:** Drª Lenilde Brandão Araújo; **Santa Catarina:** Dr. José Sidney Capanema; **São Paulo:** Prof. Carlos Adalberto de Camargo Sannazzaro; **Sergipe:** Drª Maria da Conceição de Lucena Oliveira.

Estudos sobre a variação interobservadores em citologia cérvico-vaginal*

Inter-observer studies variation in cervical smear cytological examinations

Carla Filippin¹, Leila Maria Borsarini Felipe², Aginaldo José do Nascimento³ & Maria Suely Soares Leonart⁴

RESUMO - O carcinoma de colo de útero tem sido extensivamente estudado em relação à sua etiologia. O acesso aos métodos diagnósticos, devido à sua localização anatômica, torna este tipo de neoplasia facilmente controlável, e mesmo prevenível. Semelhanças epidemiológicas entre as displasias e os carcinomas cervicais reforçam o conceito de que se trata de estágios de um mesmo processo patológico. O exame citológico de Papanicolaou se constitui em uma arma poderosa para a diminuição da morbidade e mortalidade por carcinoma cervical. Neste trabalho, foram analisadas 40 lâminas de material cérvico-vaginal, coradas pelo método de Papanicolaou, por 3 observadores, sem que cada um tivesse conhecimento prévio sobre os resultados obtidos pelos outros dois. Foram estabelecidos 18 critérios morfológicos em graus leve, moderado e acentuado, priorizando-se relação núcleo/citoplasma, irregularidade da cromatina, hipercromasia do núcleo e irregularidade do contorno nuclear, para displasia ou carcinoma e, adicionalmente, presença de espaços vazios no núcleo, formas celulares aberrantes, nucléolos aberrantes e diátese tumoral, para carcinoma. A sugestão final do diagnóstico variou entre: lesão intra-epitelial de baixo grau (LSIL) ou displasia leve; lesão intra-epitelial de alto grau (HSIL) discriminada como displasia moderada, displasia acentuada ou carcinoma epidermóide *in situ*; carcinoma epidermóide invasor e, em alguns casos, adenocarcinoma. As variações entre observadores obtidas mostraram concordância, para a maioria das amostras, não só com relação aos graus conferidos aos critérios morfológicos empregados, como também aos diagnósticos sugeridos. Em quase todas as situações em que houve discordância, as diferenças foram de apenas um patamar, ou seja, entre displasia leve e displasia moderada ou entre displasia acentuada e carcinoma *in situ*. Os resultados obtidos sugerem que o exame citológico de material cérvico-vaginal, se baseado em critérios morfológicos bem definidos, apresenta variações aceitáveis interobservadores, e que pode contribuir de forma segura para o diagnóstico.

PALAVRAS CHAVE - Neoplasia cervical; citologia cérvico-vaginal; variação interobservadores.

SUMMARY - The cervical uterine cancer etiology has been extensively studied. The easy accesses make this neoplastic type controllable and preventable. Similarities between dysplasia and cervical carcinoma reinforce the concept that there is different phases in the same pathological process. The Papanicolaou smears are an armful against the morbidity and mortality for the cervical uterine carcinoma. The purpose of the present studies is to show the inter-observer variations in 40 cervical cytology smears by 3 observers, in a blind test. It was established 18 morphological criteria as mild, moderate and severe, giving priorities to nuclear/cytoplasmic ratio, dyskaryosis, hyperchromasia and nuclear shapes, for dysplasia and carcinoma, cellular pleomorphisms, macronucleoli, intranuclear clear spaces and tumor diathesis for neoplasia. The cytological diagnosis were: low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) or mild dysplasia; high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) discriminated as moderate dysplasia, severe dysplasia or carcinoma *in situ*; invasive squamous carcinoma or in few cases, glandular neoplasia. The variations inter-observers showed agreement in more than 50% considering the grades for diagnosis and morphological criteria. In the majority of disagreement the difference laid on one criterion degree, e.g. mild dysplasia to moderate dysplasia or severe dysplasia to carcinoma *in situ*. The results suggest that the cervical smear cytological examination, when based in well-defined morphological criteria, show variations within acceptable ranges and ensure securities for diagnosis.

KEY WORDS - Cervical neoplasia; cervical smears; cervical cytology; observer variation.

INTRODUÇÃO

O carcinoma cervical invasivo é precedido por uma série de modificações do epitélio original, que constituem as lesões pré-cancerosas ou displasias. As

técnicas citológicas contribuem para o conhecimento dessas lesões e instalação de seu tratamento, com uma queda conseqüente da incidência deste estado mórbido (Rezende Filho *et al.*, 1993; Reis *et al.*, 1992).

Enquanto no interior do citoplasma de células des-

Recebido em 27/4/2000

Aprovado em 17/8/2000

Prêmio CFF/XXVII CBAC, Recife, PE, 2000

*Trabalho realizado no Laboratório de Citologia e Hematologia do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Paraná.

¹Farmacêutica-Bioquímica Industrial do Ministério do Exército - Hospital de Guarnição de Florianópolis,

²Farmacêutica-Bioquímica do Pathology-Laboratório de Citologia e Anatomia Patológica, Blumenau-SC

³Professor Adjunto do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Paraná;

⁴Professora Titular do Departamento de Patologia Médica da Universidade Federal do Paraná;

camadas no colo uterino normal são vistos núcleos pequenos e uniformes, com cromatina regularmente distribuída; em pacientes com neoplasia cervical intra-epitelial, ou seja, que apresentam lesões pré-malignas ou malignas, as características citoplasmáticas e nucleares são diversas, em geral com o citoplasma relativamente menor, albergando um núcleo volumoso, hipercromático, com cromatina densa e irregularmente distribuída (Bibbo, 1997).

A variação de interpretação em citologia cérvico-vaginal tem sido estudada, ao se considerar critérios morfológicos ou variações interobservadores, e até mesmo de um observador em diferentes oportunidades (Kato, *et al.*, 1995). Com o Sistema Bethesda, no qual as displasias leves são consideradas como LSIL, enquanto as displasias moderadas e acentuadas, bem como os carcinomas *in situ*, são consideradas como HSIL, reduziu-se as variantes para o diagnóstico (Kurman & Solomon, 1997). No entanto, as chamadas lesões de alto grau geralmente correspondem a um extenso período de evolução, em diversos estágios. Desta forma, observou-se a necessidade de se adicionar termos como displasia leve, displasia moderada, displasia acentuada ou carcinoma *in situ* ao se empregar o Sistema Bethesda em laudos citológicos (Maeda *et al.*, 1997; Meisels & Morin, 1997).

Neste trabalho, pretende-se avaliar a variação interobservadores em citologia cérvico-vaginal, considerando-se critérios morfológicos previamente definidos para a conclusão do exame citológico.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionadas, com base na adequação dos esfregaços (Kurman & Solomon, 1997; Gompel & Koss, 1997), 40 lâminas de material cérvico-vaginal coradas segundo Papanicolaou, com diagnósticos prévios de LSIL, HSIL ou carcinoma invasor, provenientes de vários laboratórios clínicos. Os esfregaços apresentavam características de coleta e aspectos morfológicos bem adequados, com células em quantidades suficientes. A avaliação foi feita por 2 ou 3 observadores, por escrutínio minucioso das lâminas, sem que nenhum deles tivesse conhecimento prévio dos resultados obtidos pelos outros observadores.

Para a avaliação do material, estabeleceu-se os seguintes critérios morfológicos, aos quais se conferiram os graus discreto (D) moderado (M) e acentuado (A), segundo Takahashi, 1985; Nardoza *et al.*, 1993; Schneider & Schneider, 1998:

• Número e tipos de células afetadas

A escassez de células alteradas não reforça um achado morfológico. O aparecimento de células afetadas menos diferenciadas aponta para o agravamento da lesão intra-epitelial;

• **Cariomegalia** - núcleo maior que o dobro do seu tamanho normal

• **Relação núcleo/citoplasma** (relação N/C) - em comparação com a relação normal apresentada pelo tipo celular em análise;

• **Hipercromasia** - o aumento do conteúdo da cromatina acentua a coloração pela hematoxilina, que se muito acentuada e associada a irregularidades do contorno do núcleo e da cromatina e a aumento da relação N/C, sugere malignidade;

• **Irregularidade da cromatina** - tendência à distribuição irregular da cromatina, desde aspecto granuloso discreto até bloqueamento, com espaços vazios e blocos irregulares com coloração em tinta nanquim;

• **Irregularidade da membrana nuclear** - com uma ou várias indentações, ou mesmo com alterações relevantes na forma nuclear;

• **Espessamento irregular da membrana nuclear** - a cromatina se adere à membrana nuclear de forma irregular, com aspecto heterogêneo da espessura da carioteca;

• **Disqueratose** - orangiofilia em células com diferenciação anormal; Paraqueratose - orangiofilia em células parabasais com núcleo picnótico; Multinucleação - núcleos em números variados, idênticos ou pleomórficos;

• **Pleomorfismo celular** - alterações morfológicas variadas nas células afetadas, que se acentuam com a evolução do processo;

• **Presença de coilócitos** - extensa região perinuclear clara, circundada por um espessamento do material citoplasmático. É freqüente a associação entre a infecção pelo papilomavirus humano e os processos pré-malignos e malignos;

• **Anisocariose** - variação do tamanho nuclear, que pode se acentuar com a evolução do processo;

• **Espaços vazios** - o desarranjo da cromatina forma espaços vazios, que não se coram pela hematoxilina, e que podem ser precoces em carcinomas;

• **Nucléolos aberrantes** - nucléolos evidentes, com número, tamanho, forma e coloração irregulares, geralmente vistos apenas em carcinoma invasivo;

• **Diátese tumoral** - aspecto sujo do fundo do esfregaço, com muco e restos de variadas células degeneradas, em geral apenas em casos de carcinoma invasivo -

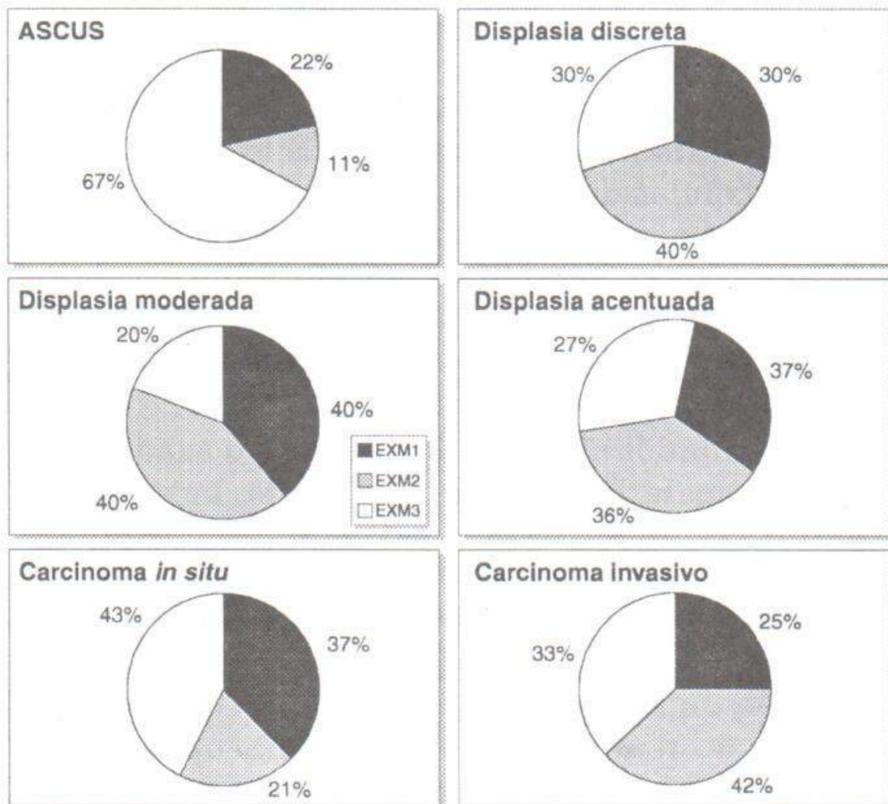
• **Presença de células com formas aberrantes** - células com formas em girino, fibra, formas bizarras e células indiferenciadas;

• **Mitoses anormais** - aparecem com estrutura heteromórfica, especialmente em carcinomas. Os itens destacados em negrito correspondem aos critérios prioritários.

A conclusão dos laudos citológicos baseou-se no Sistema Bethesda, com as classificações de lesão intra-epitelial de baixo grau (LSIL) acrescida de displasia leve; lesão intra-epitelial de alto grau (HSIL) acrescida de displasia moderada, displasia acentuada de células glandulares; ou carcinoma cervical invasor de células escamosas, ou ainda, adenocarcinoma endocervical ou endometrial.

Na citologia inflamatória ocorrem alterações reativas e degenerativas das células epiteliais, porém sem critérios citológicos para displasia ou carcinoma. Quando os critérios citológicos descritos para lesões pré-malignas ou malignas se apresentam em raras células, escassos ou pouco evidentes, a classificação diagnóstica é a de células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS) ou de células glandulares atípi-

FIGURA 1



Freqüências de sugestões de diagnósticos em citologia cérvico-vaginal para ASCUS, displasia discreta, displasia moderada, displasia acentuada, carcinoma *in situ* e carcinoma invasivo, de acordo com 3 examinadores: EXM1, EXM2 e EXM3

TABELA I

Variações interobservadores em relação às sugestões de diagnóstico na análise de esfregaços cérvico-vaginais

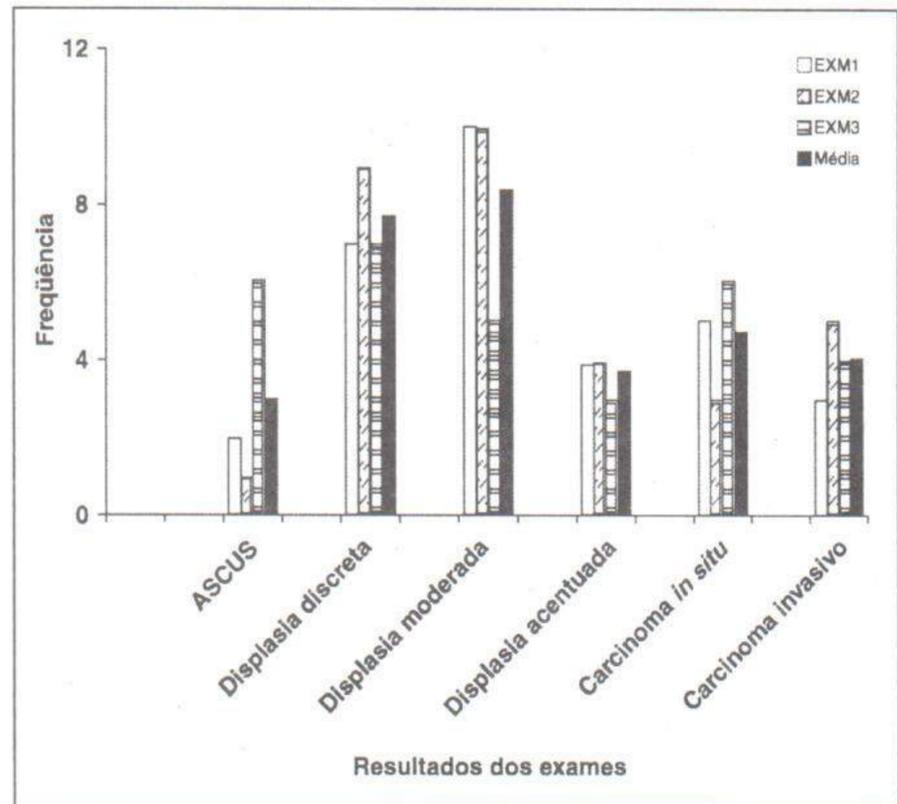
Sugestão de diagnóstico	Examinador 1	Examinador 2	Examinador 3
ASCUS	2	1	7
Displasia discreta	7	9	7
Displasia moderada	11	10	5
Displasia acentuada	4	4	3
Carcinoma <i>in situ</i>	5	3	6
Carcinoma invasivo	3	5	4

χ^2 (Pearson; 5%; GL, 10) 10,6 p = 0,380; N=32

cas de significado indeterminado (AGUS), segundo Bethesda (Kurman & Solomon, 1997). Na displasia leve as células afetadas são predominantemente superficiais e intermediárias, podendo ocorrer bi ou multinucleação, hipercromasia, cariomegalia e discretos aumentos da relação N/C e irregularidade da cromatina. Na displasia moderada, em geral muitas das células afetadas são metaplásicas, com aumento dos tamanhos nucleares, da hipercromasia, da relação N/C e das alterações da cromatina, em relação à displasia leve. Na displasia acentuada, as alterações observadas predominam em células parabasais e metaplásicas imaturas, com relação N/C, hipercromasia e irregularidades da cromatina e da membrana nuclear pronunciada.

O quadro citológico do carcinoma *in situ* é típico, com células basais, muito pouco diferenciadas, com tendência à disposição em fila indiana, citoplasma escasso e relação N/C muito elevada. Podem apresentar espaços vazios e, excepcionalmente, nucléolos evidentes, que podem auxiliar na definição do diagnóstico. (Fochi *et al.*, 1987). No carcinoma escamoso invasivo queratinizado observa-se pleomorfismo celular mais acentuado, com células aberrantes, como as formas de fibra ou girino, em geral acompanhada de diátese tumoral, nucléolos aberrantes e mitoses anormais.

FIGURA 2



Freqüências de sugestões de diagnósticos em citologia cérvico-vaginal para ASCUS, displasia discreta, displasia moderada, displasia acentuada, carcinoma *in situ* e carcinoma invasivo, de acordo com 3 examinadores: EXM1, EXM2 e EXM3, em comparação com os seus valores médios

TABELA II

Variações interobservadores em relação às sugestões de diagnóstico na análise de esfregaços cérvico-vaginais

Sugestão de diagnóstico	Examinador 1	Examinador 2	Examinador 3
ASCUS	-0,9	-1,7	2,6
Displasia discreta	-0,3	0,7	-0,3
Displasia moderada	1,1	0,6	-1,8
Displasia acentuada	0,2	0,2	-0,5
Carcinoma <i>in situ</i>	0,2	-1,0	0,8
Carcinoma invasivo	-0,7	0,7	0,0

Análise de resíduos do χ^2

A análise estatística empregada foi o teste qui-quadrado de Pearson e teste qui-quadrado residual.

RESULTADOS

Nas Figuras 1 e 2 estão representadas as freqüências dos três observadores em relação à classificação dos esfregaços cérvico-vaginais analisados, que variou entre ASCUS e carcinoma invasivo. Observou-se concordância integral em 50% das lâminas analisadas entre os 3 observadores; em 82%, entre os observadores 1 e 2; em 56%, entre os observadores 1 e 3; e em 59%, entre os observadores 2 e 3. Entretanto, ao se considerar também as variações na avaliação do diagnóstico em apenas um grau, a concordância aumentou para 87% entre os 3 observadores; 97% entre os observadores 1 e 2; 84% entre os observadores 1 e 3; e 90% entre os observadores 2 e 3. As Tabelas I e II mostram as freqüências observadas para cada examinador e o resultado da análise do Qui-quadrado.

DISCUSSÃO

A observação e a priorização de critérios bem esta-

belecidos para a determinação do grau de displasia e de câncer é de grande valia para a sugestão do diagnóstico em citologia cérvico-vaginal. Alguns critérios morfológicos foram priorizados neste trabalho por correlacionarem melhor, conceitualmente, com o processo de diferenciação anormal que ocorre em pré-malignas e malignas (Gompel & Koss, 1997; Bibbo, 1997).

Os três observadores analisaram lâminas previamente classificadas, como processos pré-malignos ou malignos. Não houve conhecimento prévio, no entanto, sobre o estágio conferido pela classificação inicial, ou mesmo pelos outros observadores. Em quase todas as situações em que houve discordância entre os observadores, as diferenças foram de apenas um patamar. A análise estatística pelo método do qui-quadrado indicou não haver diferenças entre os 3 observadores em relação à sugestão de diagnóstico (Tabela I; $p > 0,05$). Entretanto, a análise do qui-quadrado residual para a indicação de ASCUS, apontou semelhança entre o examinador 1 (2 casos) e o examinador 2 (1 caso), e diferença para o examinador 3 (7 casos). O observador 3 discordou dos outros dois em lâminas com alterações discretas optando em algumas delas pelo diagnóstico de ASCUS (Figura 1).

Existe uma tendência entre os citologistas em desvalorizar critérios morfológicos típicos de displasia em presença de agentes infecciosos agressivos, por relacioná-los à reatividade celular que acompanha o processo inflamatório. No entanto, é preciso observar atentamente se o somatório das alterações características do processo displásico é suficiente para confirmá-lo, ou, em caso de dúvida, para apontar a presença de ASCUS ou AGUS. Apesar da probabilidade de que as alterações observadas tenham sido provocadas pelos próprios agentes, as mesmas existem e, portanto, devem ser consideradas. Uma possível regressão da lesão celular, após a terapêutica adequada, não descarta um quadro de displasia, reconhecidamente reversível (Gompel & Koss, 1997). Neste caso, a diferença poderá ser tanto mais acentuada quanto menor a experiência do observador, dada a dificuldade de interpretação de critérios morfológicos que se apresentam em grau discreto.

As Figuras 1 e 2 mostram que a discordância aumenta para algumas situações, como a diferenciação entre ASCUS e displasia discreta. Ao se tentar correlacionar os diagnósticos sugeridos com a distribuição dos critérios morfológicos avaliados, classificados como leves, moderados e acentuados, entre os observadores (dados não mostrados), observou-se que, para estágios nos quais os critérios morfológicos adotados são mais evidentes, como no carcinoma epidermóide invasivo, a concordância foi maior (Figuras 1 e 2; Tabela I). A sensibilidade do método citológico é relativamente baixa para as formas mais incipientes de lesão, mas é altíssima nas formas mais avançadas de neoplasia (Fochi *et al.*, 1987)

Como, com a citologia cérvico vaginal sugere-se

o diagnóstico, a ser confirmado através do exame histopatológico, é importante oferecer um resultado descritivo das alterações observadas, com subsídios à avaliação da gravidade do caso, bem como prevenção e tratamento aplicável. A sensibilidade em detectar células displásicas, independente da especificidade em relação ao grau da displasia, não invalida o método; mas o reafirma como um excelente meio de triagem, que se associado à colposcopia, pode elevar o índice de acerto do diagnóstico para 100%. (Fochi *et al.*, 1987).

Os resultados obtidos sugerem que o exame citológico de material cérvico-vaginal, se baseado em critérios morfológicos bem definidos, apresenta variações aceitáveis interobservadores, e que pode contribuir de forma segura para o diagnóstico.

Entretanto, a subjetividade dos critérios morfológicos, e de sua aplicação para a decisão sobre a sugestão do diagnóstico, leva a variações interobservadores, que efetivamente ocorrem na rotina, intra ou interlaboratórios.

No sentido de diminuir o risco de erro do exame citológico, torna-se premente o estabelecimento de sistemas de controle de qualidade, incluindo o intercâmbio interlaboratórios através de trocas de experiências, discussões de casos e avaliações de exames citológicos. Além disso, é necessário aprofundar as pesquisas com o estudo dos erros e o detalhamento e padronização de critérios morfológicos em níveis regionais e nacional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bibbo, M. *Comprehensive Cytopathology*. 2nd ed. W. B. Saunders Company: Philadelphia, 1997.
2. Fochi, J.; Leitzke, G. & Lima Filho, O. A. Lesões precursoras do câncer do colo do útero - diagnóstico e tratamento. *Jornal Brasileiro de Ginecologia*. v. 97, n. 6, p. 299-303, 1987.
3. Gompel, C.; Koss, L. G. *Citologia Ginecológica e suas bases anatomoclínicas*. Manole: São Paulo, 1997.
4. Kurman, R. J.; Solomon, D. *O Sistema Bethesda para o relato de diagnóstico citológico cervicovaginal*. Revinter: Rio de Janeiro, 1997.
5. Maeda, M. Y. S. *et al.* Image analysis of nuclear/ cytoplasmic ratio in cervical smears to discriminate three grades of cervical intraepithelial neoplasia. *Acta Cytologica*. v. 41, n. 3, 1997.
6. Mckee, G. *Citopatologia*. Medicas: São Paulo, 1997.
7. Meisels, A.; Morin, C. *Cytopathology of the uterus. Squamous intraepithelial lesions*. American Society of Clinical Pathologists: Chicago. p. 227-244. 1997.
8. Nardoza, L. M. M. Avaliação comparativa entre a citologia, a colposcopia e a histopatologia nas displasias leves e moderadas na puerperidade. Conduta proposta. *Jornal Brasileiro de Ginecologia*. v. 103, n. 7, p. 243-247, 1993
9. Reis, A. F. F. *et al.* Valor da citologia e da biópsia dirigida pela colposcopia no diagnóstico das neoplasias cervicais uterinas. *Jornal Brasileiro de Ginecologia*. v. 102, n. 5, p. 163-167, 1992.
10. Rezende Filho, J.; *et al.* Neoplasias intra-epiteliais cervicais (NIC). Aspectos atuais da etiologia e da tratamento. *Jornal Brasileiro de Ginecologia*. v. 103, n. 5, p. 147-151, 1993.
11. Schneider, M. L.; Schneider, V. *Atlas citológico diferencial em Citologia Ginecológica*. Revinter: Rio de Janeiro, 1998.
12. Takahashi, M. *Atlas Color Citologia del Cancer*. 2^a ed. Panamericana. Buenos Aires, 1995.

Endereço para correspondência

Carla Filippin
Av. Nossa Senhora da Luz, 160-01
Bacacheri - 82510-020 - Curitiba - PR

Proposta de um modelo de padronização para o exame sumário de urina

Proposal to standardization model for the urinalysis

Queiroz, M. G. R., Alencar, N. M. N & *Melo, C. L.

RESUMO - O exame sumário de urina representa sem dúvida um elemento indispensável na detecção de diversas doenças do trato urinário, metabólicas ou sistêmicas não relacionadas com o rim. Quando realizado e interpretado criteriosamente, oferece ao solicitante valiosas informações para o esclarecimento diagnóstico. O presente trabalho tem como objetivo propor um modelo de padronização de resultados, descritos de acordo com o exame físico (volume, cor, aspecto, depósito e densidade), pesquisas bioquímicas realizadas através de tiras reativas (pH, proteínas, glicose, corpos cetônicos, hemoglobina, urobilinogênio, bilirrubina, esterase leucocitária e nitrito) e os elementos encontrados na sedimentoscopia urinária (células epiteliais de descamação, leucócitos, hemácias, cilindros, bactérias, muco, cristais, sais amorfos, leveduras, espermatozoides e parasitas). Além destes parâmetros, algumas observações podem ser descritas, quando necessárias, com a finalidade de fornecer informações ao clínico que possam auxiliar no diagnóstico de doenças mais específicas. Sabe-se da existência de vários interferentes na urina que podem provocar reações falso-positivas ou falso-negativas. Por este motivo, a confirmação de alguns componentes urinários (proteínas, glicose, bilirrubina e urobilinogênio) é necessária para garantir a exatidão do resultado. A padronização de procedimentos poderá evitar as diferentes formas de transcrição do laudo interlaboratorial, o que ocasiona interpretação e tratamento inadequados.

PALAVRAS-CHAVE - Padronização de sumário de urina.

SUMMARY - The urinalysis represents, without any doubt, an indispensable element in the detection of several diseases, metabolic or systemic of the urinary tract not related with the kidney. When accomplished and interpreted with criterion, offers to the clinic valuable information to elucidate diagnosis. The present work has the objective to propose a standardization model of results, described in agreement with the physical exam (volume, color, aspect, deposit and density), chemical tests (pH, proteins, glucose, ketones, hemoglobin, urobilinogen, bilirubin, leukocytes esterase and nitrite) and the elements found in the urine microscopic examination (epithelial cells, white cells, red cells, cylinders, bacteria, mucus, crystals, amorphous salts, yeasts cells, spermatozoon and parasites). Besides these parameters, some observations can be described, when necessary, with the purpose of supplying information to the clinical that can help in the diagnosis of more specific diseases. As know, there are several interferents in the urine that can promote the false-positive and false-negative reactions. For this reason, the confirmation of some components (proteins, glucose, bilirubin and urobilinogen) is necessary to guarantee the accuracy of the result. The standardization of procedures can avoid the different transcription forms from interlaboratorial results which causes inadequate interpretation and treatment.

KEY WORDS - Urinalysis standardization.

INTRODUÇÃO

Padronização

A padronização de procedimentos no laboratório clínico, particularmente no setor de uroanálise, é de fundamental importância para a obtenção da exatidão e da precisão dos resultados. O objetivo da padronização é eliminar ou pelo menos reduzir a ambigüidade e a subjetividade inerentes aos procedimentos adotados na rotina laboratorial. A padronização começa com o preparo do paciente através das instruções a ele fornecidas pelo laboratório, (verbal e escrita), no sentido de que o material seja coletado, arma-

zenado e transportado da forma mais adequada e correta possível, seguida do processamento, análise, interpretação e digitação do laudo.

Com a intenção de padronizar o Exame Sumário de Urina quanto à descrição de suas características físicas, pesquisas bioquímicas e análise microscópica do sedimento, algumas *sugestões* são propostas no que diz respeito ao modelo de resultado a ser utilizado no laboratório clínico, com base nas referências abaixo mencionadas e na nossa experiência adquirida.

Como é visto e sabido, a apresentação do Exame Sumário de Urina assume aspectos diferentes entre os laboratórios no momento em que se observa a diversi-

Recebido em 13/7/2000

Aprovado em 26/10/2000

*Professor do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas/UFC
Rua Capitão Francisco Pedro, 1210, Rodolfo Teófilo, 60430-370, Fortaleza, Ceará

dade de formas de transcrição dos resultados obtidos.

Via de regra, os modelos de Exame Sumário de Urina contêm as seguintes informações:

1. Exame Físico - Volume enviado, cor, aspecto, depósito e densidade;

2. Exame Químico - pH e as pesquisas qualitativas ou semi-quantitativas de alguns componentes urinários tais como: proteínas, glicose, corpos cetônicos, hemoglobina, urobilinogênio, bilirrubina, esterase leucocitária e nitrito;

3. Análise microscópica do sedimento urinário (sedimentoscopia).

4. Observações importantes que poderão auxiliar no esclarecimento diagnóstico.

1. Exame Físico

• **Volume** – informação desnecessária, visto que, a quantidade de material enviado ao laboratório difere entre os usuários. Portanto, sugere-se que este item seja retirado do modelo de resultado por não ter nenhuma importância clínica.

• **Cor** – amarelo citrino, amarelo âmbar, vermelha e negra. Evidentemente, outras cores deverão ser descritas como se apresentam (azul, verde, laranja, etc), possivelmente devido à ingestão de medicamentos.

• **Aspecto** – límpido, levemente turvo e turvo.

• **Depósito** – nulo, discreto, regular e abundante, cuidadosamente observado com a urina em repouso e o primeiro item a ser anotado.

• **Densidade** – 1,005 a 1,035 (alguns fatores devem ser considerados na interpretação correta da densidade urinária, quais sejam: estado da função renal e ingestão de líquidos, alimentos e medicamentos).

2. Exame Químico

• **pH** – embora um indivíduo sadio geralmente produza a primeira urina da manhã com pH ligeiramente ácido, (entre 5,0 e 6,0), o pH normal das outras amostras do dia pode variar de 4,5 a 8,0. Conseqüentemente, não existem valores normais para o pH urinário, fator que deve ser considerado em conjunto com outras informações do cliente, tais como: valor do equilíbrio ácido-base do sangue, função renal, presença de infecção do trato urinário, ingestão de alimentos ou medicamentos e tempo transcorrido após a coleta da amostra.

• **Proteínas**

traços, positivo (1+, 2++, 3+++ e 4++++) ou negativo.

• **Glicose**

traços, positivo (1+, 2++, 3+++ e 4++++) ou negativo.

• **Corpos Cetônicos**

traços, positivo (1+, 2++ e 3+++) ou negativo.

• **Hemoglobina**

traços, positivo (1+, 2++, 3+++ e 4++++) ou negativo.

• **Urobilinogênio**

traços normais, aumentado (1+, 2++ e 3+++), em

mg/dL ou E.U. (do inglês, Unidades Erlich) quando possível e de acordo com o desempenho da tira reativa.

• **Bilirrubina**

traços, positivo (1+, 2++ e 3+++) ou negativo.

• **Esterase Leucocitária**

traços, positivo (1+, 2++ e 3+++) ou negativo.

• **Nitrito**

positivo ou negativo.

2.1. Testes confirmatórios

Existem vários interferentes na urina que podem provocar o aparecimento de reações falso-positivas ou falso-negativas nas tiras reativas. Por este motivo, a confirmação de alguns parâmetros bioquímicos é necessária para garantir a exatidão do resultado.

Em caso de proteínas, glicose, bilirrubina e urobilinogênio positivos (tira reativa), confirmar os resultados adotando os procedimentos descritos abaixo:

**Centrifugar 10 mL de urina previamente agitada a 1.500 rpm durante 5 minutos.*

• **Proteínas** - Transferir 2 mL desta urina para um tubo de ensaio. Pipetar 2 mL de Ácido Sulfossalicílico 10% e introduzir a pipeta até o fundo do tubo, deixando o ácido escoar lentamente sem agitação. Observar atentamente o aparecimento ou não de um anel esbranquiçado entre a urina e o ácido de intensidade diretamente proporcional à concentração de proteínas na amostra analisada.

Interpretação

Ausência de turvação	Proteinúria Negativa
Discreta turvação	Traços
Fraca turvação	(+)
Moderada turvação	(++)
Intensa turvação	(+++)
Intensa turvação com precipitação	(++++),

Causas

- **Funcionais** (exercício muscular intenso, gravidez, proteinúria ortostática).

- **Pré-renal** (febre, condições tóxicas, congestão venosa, hipertensão maligna, proteinúria de Bence-Jones).

- **Renal** (glomerulonefrites, síndrome nefrótica, lesão do parênquima renal)

- **Pós-renal** (cistites, uretrites, prostatites, contaminação com secreção vaginal e uretral).

• **Glicose** - Em um tubo de ensaio, colocar 2,5 mL do reativo de Benedict e 4 gotas de urina. Misturar e aquecer em bico de Bunsen ou lâmpada a álcool até ebulição, durante 2 minutos. Observar cuidadosamente a mudança na cor da mistura (reativo/urina).

Interpretação

Azul ou verde (límpido)	Ausência
Verde oliva (turvo)	Traços
Verde amarelado	(+)
Amarelo claro	(++)
Alaranjado	(+++)
Vermelho tijolo	(++++)

Causas

- **Diabetes mellitus**, reabsorção tubular deficiente (síndrome de Fanconi e nefropatia tubular avançada), lesões do SNC, distúrbios da tireóide, gravidez com possível diabetes *mellitus* latente.

• **Bilirrubina** - Em um tubo de ensaio, colocar 2 mL de urina. Pipetar 2 mL da solução de Lugol forte, introduzindo a pipeta até o fundo do tubo, deixando escoar lentamente o Lugol sem agitação. Observar atentamente o aparecimento ou não de um anel verde entre a urina e o Lugol, de tonalidade tanto mais intensa quanto maior a concentração de bilirrubina na amostra.

Causas

- **Hepatites, cirrose, obstrução biliar.**

Observação: Deve despertar grande atenção a urina amarelo-laranja de pessoas que estão fazendo uso de compostos derivados da Piridina (*Pyridium*), já que o espesso pigmento produzido pode ser tomado erroneamente por bilirrubina no exame inicial.

• **Urobilinogênio** - Em um tubo de ensaio, colocar 2 mL de urina. Pipetar 2 mL de Ácido Nitro-Nitroso, introduzindo a pipeta até o fundo do tubo, deixando escoar lentamente o ácido sem agitação. Observar cuidadosamente o aparecimento de um anel castanho (âmbar) entre a urina e o ácido, de tonalidade tanto mais intensa quanto maior a concentração de urobilinogênio na amostra.

Causas

- **Doenças hepáticas, distúrbios hemolíticos, urinas concentradas.**

Observação: Algumas áreas das tiras reativas de boa qualidade, tais como, corpos cetônicos, sangue (hemoglobina), nitrito e leucócitos (esterase) proporcionam confiabilidade na leitura suficiente para dispensar os testes confirmatórios.

Importante: As características físicas da urina e a leitura das tiras reativas devem ser observadas em ambiente com boa luminosidade. A luminosidade não terá muita importância no que diz respeito à leitura das tiras reativas quando o laboratório possuir equipamen-

to automatizado. O armazenamento e o uso adequados das tiras reativas devem obedecer às recomendações técnicas do fabricante.

2.2. Controle de qualidade

O uso obrigatório e diário de controles qualitativos, semi-quantitativos e quantitativos tem como objetivo checar metodologias, reagentes, equipamentos e a capacidade técnica de quem realiza os testes laboratoriais, no sentido de obter resultados confiáveis e facilitar a interpretação analítica. Para tanto, torna-se necessário que o laboratório clínico seja vinculado a programas de controle de qualidade idôneos tais como PNCQ, PELM, etc.

3. Análise microscópica do sedimento urinário

3.1. Preparo e análise do sedimento urinário

- Agitar suavemente toda a urina.
- Colocar 10 mL da amostra em um tubo cônico graduado e identificado para concentrar o sedimento urinário.
- Centrifugar o material a 1.500 rpm durante 5 minutos. Manter os tubos fechados com tampa rosqueável (preferencialmente) para evitar o fenômeno do aerosol.
- Desprezar o sobrenadante, caso não haja necessidade de confirmar algum parâmetro conforme descrito.
- Misturar suavemente o sedimento, retirar 50 µL e colocar sobre uma lâmina para microscopia.
- Homogeneizar o sedimento com a ponta da lamínula e cobrir o material.
- Aguardar cerca de 1 minuto para que os elementos se depositem na superfície da lâmina.
- Observar o sedimento inicialmente com Obj. 10x e luminosidade reduzida (diafragma embaixo) para obter uma visão geral em vários campos microscópicos.
- Efetuar a identificação dos elementos com Obj. 40x e descrevê-los como estabelecido abaixo:

3.2. Ordem e forma de descrição dos elementos presentes no sedimento urinário

1º) **Células epiteliais de descamação** (contar 10 campos microscópicos Obj. 40x e descrever de acordo com o caso):

Raras células epiteliais de ...	Até 2/campo em média)
Regular quantidade de células epiteliais de..	(3 a 10/campo em média)
Numerosas células epiteliais de...	(Acima de 10/campo em média)

Obs: Lembrar que, as células tubulares renais e as transicionais em número significativo, podem, quando seguramente identificadas, adquirir importância diagnóstica.

2º) **Leucócitos** (contar 10 campos microscópicos Obj. 40x e descrever de acordo com o caso):

Raros	(Até 2/campo em média)
Leucócitos	(3 a 10/campo em média, quando possível contar)
Numerosos ...	(acima de 10/campo)

3º) Hemácias bem ou mal preservadas (contar 10 campos microscópicos Obj. 40x, identificar e descrever de acordo com o caso):

Raras hemácias bem ou mal ...	(Até 2/campo em média)
Hemácias bem ...	(X/campo em média, quando possível contar)
Hemácias mal ...	(X/campo em média, quando possível contar)
Numerosas hemácias bem ou mal ...	(Na impossibilidade de contar)

Observação: Se no mesmo sedimento estiverem presentes hemácias bem e mal preservadas, indicar o predomínio.

Ex. 1: Raras hemácias, com predomínio das bem/mal preservadas.

Ex. 2: Hemácias (X/campo em média), com predomínio das bem/mal preservadas.

Ex. 3: Numerosas hemácias, com predomínio das bem/mal preservadas.

4º) Cilindros (contar 10 campos microscópicos Obj. 40x, identificar e descrever de acordo com o caso):

Raros cilindros ...	(Até 2/campo em média)
Cilindros ...	(X/campo em média, quando possível contar)
Numerosos cilindros ...	(Na impossibilidade de contar)

5º) Filamentos de muco (contar 10 campos microscópicos Obj. 40x e descrever de acordo com o caso e o bom senso do analista):

Raros ...	(até 2/campo em média)
Regular quantidade de ...	(3 a 10/campo em média)
Numerosos ...	(Na impossibilidade de contar)

6º) Cristais (contar 10 campos microscópicos Obj. 40x, identificar e descrever de acordo com o caso):

Raros cristais de ...	(Até 2/campo em média)
Regular quantidade de cristais de ...	(3 a 10/campo em média)
Numerosos cristais de ...	(Acima de 10/campo em média)

7º) Sais amorfos – uratos, fosfatos, etc (contar 10 campos microscópicos Obj. 40x e descrever de acordo com o caso e o bom senso do analista - verificar o pH da urina):

Discreta deposição de ...
Moderada deposição de ...
Intensa deposição de ...

8º) Leveduras – Conídios, pseudomicélios e pseudohifas de leveduras (contar 10 campos microscópicos Obj. 40x, identificar e descrever de acordo com o caso e o bom senso do analista):

Raros ...
Regular quantidade de ...
Numerosos ...

9º) *Trichomonas vaginalis* (mulher) e *Trichomonas sp* (homem) – de acordo com o caso:

Presença de ...

10º) *Espermatozoides* (em urina de homem):

Presença de ...

11º) Bactérias – Em caso de bacteriúria positiva (sugestiva de infecção urinária), detectada na sedimentoscopia, colocar 2 gotas de urina previamente agitada sobre uma lâmina (não espalhar), deixar secar em estufa a 37°C por alguns minutos e corar pelo método de Gram. Secar a lâmina suavemente com papel de filtro e circundar a área corada com lápis dermatográfico ou caneta de transparência na parte inferior da lâmina para delimitar a área a ser analisada. Contar 20 campos microscópicos com a objetiva de imersão, descrever a flora bacteriana quanto à morfologia (cocos, bacilos, cocobacilos, etc), características tintoriais (Gram positivo ou Gram negativo) e calcular a média de microrganismos observados.

Exemplos de descrição da bacteriúria:

Flora bacteriana homogênea, constituída por raros cocos Gram positivo (**média < 1**).

Flora bacteriana homogênea, constituída por cocos Gram positivo (**média = ou > 1**).

Flora bacteriana homogênea, constituída por raros bacilos Gram negativo (**média < 1**).

Flora bacteriana homogênea, constituída por bacilos Gram negativo (**média = ou > 1**).

Flora bacteriana homogênea, constituída por raros bacilos Gram positivo (**média < 1**).

Flora bacteriana homogênea, constituída por bacilos Gram positivo (**média = ou > 1**).

Flora bacteriana mista, constituída por bacilos e cocos Gram positivo (**média = ou > 1**).

Flora bacteriana mista, constituída por cocos Gram positivo e bacilos Gram negativo (**média = ou > 1**).

Flora bacteriana mista, constituída por bacilos Gram positivo e bacilos Gram negativo (**média = ou > 1**).

Flora bacteriana mista, constituída por bacilos Gram negativo e bacilos e cocos Gram positivo (**média = ou > 1**).

Flora bacteriana mista, constituída por bacilos Gram positivo e bacilos e cocos Gram negativo (**média = ou > 1**).

4. Informações importantes que poderão auxiliar no esclarecimento diagnóstico:

a) Não foram visualizados cilindros nem bactérias no sedimento examinado.

b) **Resultado compatível com o quadro de infecção urinária** (no caso de os elementos encontrados indicarem tal situação). Observar as evidências presentes nas pesquisas bioquímicas e no sedimento urinário.

c) **Resultado compatível com o quadro de doença glomerular** (no caso de estarem presentes hemácias dismórficas e cilindros hemáticos seguramente identificados e em quantidades significativas). A microscopia de contraste de fase é extremamente útil na identificação do dismorfismo eritrocitário pois tem a vantagem de fortalecer a silhueta das hemácias portadoras da referida alteração.

d) **Flora bacteriana compatível com a microbiota da uretra distal** (quando a situação for seguramente identificada – coleta e/ou recipiente inadequados?). O usuário do laboratório recebeu as instruções (verbais e/ou escritas) para coletar o material? Relacionar os achados bioquímicos com os elementos observados na sedimentoscopia. Lembrar sempre que a quantidade e a qualidade da amostra clínica são de

fundamental importância para a obtenção de resultados confiáveis.

AGRADECIMENTOS

Pelas valiosas informações aos Doutores: Benvenuto Aécio Pinheiro Holanda, José Júlio Costa Sidrim, Manoel Alves Maia Filho, Manoel Roberto de Lacerda, Nadilson da Silva Cunha e Roberto Lima Soares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Henry, J. B. (1995) *Diagnósticos Clínicos & Tratamento por Métodos Laboratoriais*, Editora Manole Ltda, 18ª Edição., pp. 443-514.
2. Medeiros, A. S. (1981) *Semiologia do Exame Sumário de Urina*, Editora Guanabara Koogan.
3. Strasinger, S. K. (2000) *Uroanálise & Fluidos Biológicos*, Editorial Premier, 3ª Edição.
4. Graff, S. L. (1987) *Análisis de Orina Atlas Color*, Editorial Medica Panamericana, 1ª Edição.
5. Vallada, EP. (1997) *Manual de Exame de Urina*, Livraria Atheneu, 4ª Edição.
6. *Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens*; Approved Guideline (1995). National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), GP 16-A Vol. 15, Nº 15, Replaces GP 16-T, Vol. 12, Nº 26.

Endereço para correspondência

Profª Maria Goretti Rodrigues de Queiroz
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - DACT
Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem - FFOE
Universidade Federal do Ceará - UFC - Fax: (0xx85)288-8292
e-mail: magorq@zipmail.com.br

Credenciamento do Sistema da Qualidade

A SBAC vem realizando um curso preparatório para o laboratório implantar um Sistema da Qualidade, com ou sem o objetivo de alcançar o credenciamento.

Assim como todos os organismos de certificação que fornecem treinamento para os interessados no reconhecimento de um Sistema da Qualidade, a SBAC, atuará dentro desse mesmo princípio e objetivo: treinar os interessados, para alcançarem o credenciamento pela SBAC.

Informações

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

Rua Vicente Licínio, 95 • Rio de Janeiro • RJ • 20270-902

Tel.: (0xx21) 264-4449/234-4881

e-mail: credenciamento@sbac.org.br

PRÊMIO SBAC

REGULAMENTO



I - DO PRÊMIO

- 1) O "Prêmio SBAC" é promovido pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas - SBAC;
- 2) O Prêmio será no valor correspondente a US\$ 1,500 dólares americanos na data do Congresso, além de diploma alusivo;
- 3) O Prêmio será entregue na solenidade programada pela SBAC nos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas - CBAC.

II - DOS OBJETIVOS

O "Prêmio SBAC" tem por objetivo:

- 1) Estimular o desenvolvimento de pesquisas na área de Análises Clínicas no País; e
- 2) Premiar o melhor trabalho apresentado na sessão de Temas Livres dos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas, com vistas à melhoria técnica do Laboratório Clínico.

III - DA PARTICIPAÇÃO

- 1) Poderão concorrer ao Prêmio, todos os trabalhos inscritos e apresentados na sessão de Temas Livres dos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas;
- 2) Para concorrer ao Prêmio, os autores deverão remeter à Secretaria da SBAC, até 45 dias antes do Congresso, 5 (cinco) cópias do trabalho original completo, atendendo às normas de publicação da Revista Brasileira de Análises Clínicas, contendo: introdução (com objetivo definido do trabalho) material e métodos, resultados, discussão, conclusão, bibliografia, resumo em português, *summary* em inglês, palavras chaves (*uniterms*) e *key words* (*uniterms*).
- 3) Os trabalhos concorrentes deverão ser escritos em português e serem originais, ainda não publicados nem comprometidos para publicação em qualquer Revista Científica da Especialidade;
- 4) O trabalho premiado será publicado com exclusividade na Revista Brasileira de Análises Clínicas e deverá ser obrigatoriamente apresentado pelo autor (ou autores) aos congressistas do CBAC em que foi premiado, em dia e hora determinados pela Comissão Julgadora do Prêmio e Comissão Organizadora do CBAC. Para isto, é necessário que o(s) autor(es) compareça(m) ao Congresso preparado(s) para fazer tal apresentação com slides, transparências e outros recursos que o(s) autor(es) julgar(em) pertinente(s);
- 5) Os demais trabalhos selecionados pela Comissão Julgadora ao "Prêmio SBAC", poderão ser publicados na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 6) O não atendimento aos itens 1 a 4 desqualifica o trabalho e/ou o recebimento do Prêmio.

IV - DA COMISSÃO JULGADORA

- 1) A Comissão Julgadora será composta de pelo menos 5 (cinco) membros nomeados pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, sendo um o Presidente;
- 2) A composição da Comissão Julgadora será divulgada pela SBAC nos programas oficiais dos CBAC;
- 3) A Comissão Julgadora selecionará os 3 (três) melhores trabalhos apresentados, outorgando a um deles o "Prêmio SBAC", e aos outros 2 (dois), um diploma de Menção Honrosa;
- 4) A decisão da Comissão Julgadora é soberana e irrecorrível.

V - DISPOSIÇÕES GERAIS

- 1) O "Prêmio SBAC" é indivisível e será conferido a apenas um trabalho, ficando a inteiro critério dos autores seu eventual rateio;
- 2) O trabalho inscrito mas não apresentado na sessão de Temas Livres do Congresso, será desclassificado para concorrer ao "Prêmio SBAC";
- 3) O trabalho concorrente ao Prêmio, deve ser apresentado na sessão de Temas Livres obrigatoriamente por um dos autores regularmente inscrito no Congresso;
- 4) Os casos omissos serão resolvidos pela Diretoria da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, ouvida a Comissão Julgadora.

Rio de Janeiro, 26 de Janeiro de 1996.
Dr. Humberto Marques Tibúrcio
Presidente

Informações

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
Prêmio SBAC

Rua Vicente Licínio, 95 • Rio de Janeiro • RJ • 20270-340
e-mail: congresso@sbac.org.br

Avaliação da função plaquetária de doadores de sangue

Assessment of the platelet function of blood donors

Neiva¹, T.J.C.; Brocardo², G.; Ferreira³, J.S.; Ferreira³, V.L. & Castro⁴, C.E.S

RESUMO - A utilização de hemoderivados constitui-se atualmente numa modalidade terapêutica de fundamental importância no exercício da medicina. Dentre os diversos hemocomponentes que podem ser utilizados, o concentrado de plaquetas (CP) é de grande utilização em situações de distúrbios hemorrágicos. O estudo teve por objetivo avaliar perfil laboratorial de doadores de plaquetas na sua fase de triagem e o monitoramento dos CP utilizados para fins terapêuticos. Foram avaliados 120 indivíduos adultos selecionados na triagem. As bolsas de CP obtidas foram divididas em grupo de 30 bolsas, respectivamente 0h, 24h, 48h e 72h após sua preparação. Na triagem a média de plaquetas foi de $1,76 \times 10^5/\text{mm}^3$. Os testes de agregação com colágeno, ADP e adrenalina demonstraram respectivamente 20%, 43% e 40% de doadores hipoagregantes. Nas bolsas de CP foi encontrado um volume médio de 50,9ml com concentração plaquetária inicial de $1,74 \times 10^6/\text{mm}^3$, reduzindo 48% em 24h. A agregação plaquetária reduziu significativamente para colágeno após 48h e para ADP e adrenalina em 24h. O pH inicial das bolsas foi de 7,39 alterando-se significativamente em 24h porém, mantendo-se dentro dos limites normais. Os resultados obtidos nos permitem inferir que o processo de separação e armazenamento promovem um grau de ativação plaquetária significativos. O estudo também demonstra a necessidade de uma reavaliação para os indicadores laboratoriais necessários a doação de plaquetas objetivando adequar a qualidade deste hemoderivado em benefício da população.

PALAVRAS-CHAVE - Plaquetas, controle de qualidade, hemoderivados.

SUMMARY - The use of hemoderivates is nowadays a fundamentally important therapeutic modality in the exercise of medicine. Among the various hemocomponents employed, we have the platelet concentrate (PC), indicated in cases of hemorrhagic disturbances. This study had as a goal to assess the laboratory profile of platelet donors on their screening phase, and the monitoring of platelet concentrates (PCs). In the study, 120 adult individuals selected on screening tests were evaluated. The obtained PC bags were divided on 30-bag groups of 0 hours, 24 hours, and 72 hours, respectively, following their preparation. The average number of platelets at screening was $1.76 \times 10^5/\text{mm}^3$. Tests of aggregation using collagen, ADP, and adrenaline showed 20%, 43% and 40% hypoaggregated donors. In PC bags a mean volume of 50.9ml was found, with an initial platelet aggregation of $1.74 \times 10^6/\text{mm}^3$, reducing 48% in a 24-hour period. Platelet aggregation reduced significantly to collagen after 48 hours, and to ADP and adrenaline in 24 hours. The bags showed an initial pH of 7.39, with significant alteration on 24 hours, keeping nevertheless to normal limits. Results, such as obtained, allow us to infer the process of separation and storing promote a significant degree of platelet activation. The study demonstrates also the need to reassess the laboratory indicators necessary for platelet donation, seeking to render the quality of this hemoderivate adequate, so as to benefit the population.

KEY WORDS - Platelet, quality control, hemoderivates.

INTRODUÇÃO

Os hemoderivados são obtidos a partir de doações de sangue voluntárias, coletados em serviços de hemoterapia constituindo-se numa modalidade terapêutica de grande importância clínica. Nos Estados Unidos, cerca de 22 milhões de diferentes hemoderivados são transfundidos por ano, sendo que deste total, cerca de 7 milhões são referentes a bolsas de concentrados de plaquetas (CP)¹. A partir do sangue humano, chegam-se aos hemocomponentes utilizados na hemoterapia mo-

derna, que basicamente inclui o concentrado de hemácias, plasma, crioprecipitado e o concentrado de plaquetas^{2,3}.

Atualmente, a produção e o controle de qualidade dos hemoderivados obtidos nos Serviços de Hemoterapia do Brasil obedecem às recomendações do Ministério da Saúde⁴ que preconizam a realização de uma triagem prévia, testes sorológicos e determinação de padrões hematológicos dos doadores, permitindo assim, avaliar o estado de saúde destes, diminuindo em muito, os riscos e as complicações relacionadas às he-

Recebido em 01/8/2000
Aprovado em 22/10/2000

¹Depto. Análises Clínicas - UFSC; ²Acadêmica de Farmácia-Análises Clínicas - UFSC;
³Serviço de Hemoterapia do H.U. - UFSC ⁴Acadêmica de Medicina - UFSC

motransfusões. Dentre os diversos hemocomponentes obtidos, temos o concentrado de plaquetas (CP), bastante utilizado nos distúrbios trombocitopênicos⁵.

Quando consideramos os concentrados de plaquetas (CP), há vários fatores que devem ser observados para que tenhamos um padrão de qualidade aceitável que incluem: temperatura, volume, pH e avaliação quantitativa de plaquetas. Estudos utilizando-se CP demonstram que essas células perdem sua viabilidade muito rapidamente durante o período de armazenamento, o que implica na necessidade de uma renovação constante de estoque^{6,7,8}. Vale ressaltar que nos Serviços de Hemoterapia do Brasil ainda não são realizados estudos rotineiros que permitam avaliar a função plaquetária no estágio inicial da doação e após obtenção do CP durante o seu período de armazenamento. Apesar dessa avaliação não constituir uma obrigatoriedade, sabe-se que o monitoramento da função plaquetária é fundamental para a eficácia terapêutica desse hemocomponente. Dessa forma, o presente trabalho tem por objetivo avaliar a função plaquetária de doadores de sangue de Serviço de Hemoterapia do Hospital Universitário-UFSC.

MATERIAL E MÉTODOS

Reagentes

Adenosina difosfato (ADP), adrenalina e colágeno foram adquiridos da Crono-log. Corp. Citrato de sódio dihidratado-Merck.

Amostras

Foram estudados 120 indivíduos adultos de ambos os sexos que, após terem manifestado seu desejo de doar sangue, foram submetidos à triagem clínica e exames laboratoriais no Serviço de Hemoterapia da Universidade Federal de Santa Catarina. Após liberação para doação os doadores foram informados do estudo e sob seu consentimento, eram coletados 10ml de sangue (pré-fracionamento), através de punção venosa e anticoagulado com citrato de sódio 0,38% final. Para o estudo com CP foram utilizadas 120 bolsas preparadas a partir do sangue total de doadores previamente aprovados no processo de seleção.

Separação de plaquetas (triagem)

As plaquetas foram isoladas por centrifugação do sangue total a 180xg durante 6min à temperatura ambiente para obtenção do plasma rico em plaquetas (PRP) A concentração de plaquetas do PRP foi posteriormente reajustada para a 3×10^5 plaquetas/mm³ com solução fisiológica.

Separação do Concentrado de Plaquetas

As plaquetas foram isoladas por centrifugação do sangue total a 1600xg durante 8 min à temperatura de 22°C para obtenção do plasma rico em plaquetas (PRP). O PRP obtido foi novamente centrifugado 2400xg durante 8 min. nas mesmas condições experimentais. Após a última centrifugação separou-se o sobrenadante (PPP) e o residual contendo plaquetas foi ressuspensão

em um volume médio de 50 ± 0.9 ml do respectivo plasma. A bolsa contendo o concentrado de plaquetas (CP) foi mantida em repouso por 1h e posteriormente colocado em um agitador onde permaneceu sob agitação constante até seu uso. Os CP foram avaliados por períodos de 0h à 72hs.

Estudos de agregação plaquetária

O estudo foi feito segundo o método descrito por Born e Cross⁹ utilizando-se agregômetro modelo Net-Lab. Os agentes indutores e suas respectivas concentrações foram: colágeno- 2,0µg/ml, adrenalina-6µM e ADP- 6µM. Para cada teste foram utilizadas alíquotas de 450µl de PRP e a quantificação da agregação foi expressa em % de agregação após 5 min. de estimulação. Esse procedimento foi utilizado para a triagem dos doadores e CP. O número de plaquetas foi mantido constante (3×10^5 /mm³).

Monitorização do pH e volume

A medida de pH foi feita em alíquotas de CP (2ml) utilizando-se potenciômetro modelo Cibas. O volume das bolsas de CP foi avaliado utilizando-se uma proveta laboratorial.

Análise estatística

Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente utilizando-se o programa Instat-2. O teste de escolha foi Student-t e adotou-se como diferença significativa os valores de $p < 0.05$ e $p < 0.01$.

RESULTADOS

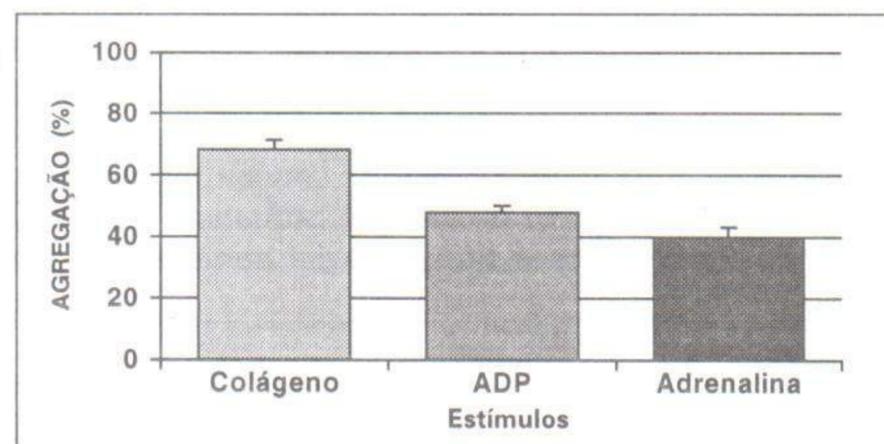
Na Tabela I encontram-se distribuídos os valores médios plaquetas em sangue periférico de doadores na etapa inicial do procedimento de doação (triagem). O estudo funcional da plaquetas foi realizado através de agregação utilizando-se como agonistas colágeno, ADP e adrenalina (Figura 1).

TABELA I
Avaliação quantitativa de plaquetas
pré-fracionamento no sangue dos doadores(triagem)

Plaquetas ($\times 10^5$ /mm ³)	Média \pm DP
Quantificação	1.76 ± 0.43

n=120

FIGURA 1
Avaliação funcional das plaquetas pré-fracionamento



n=120

FIGURA 2
Agregação com colágeno

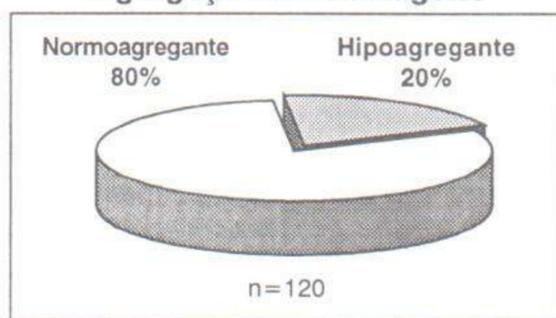


FIGURA 3
Agregação com ADP

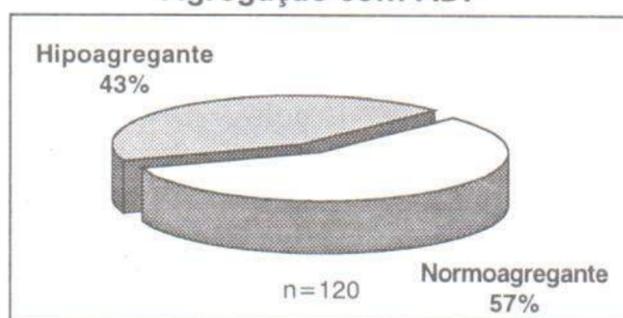


FIGURA 4
Agregação com adrenalina

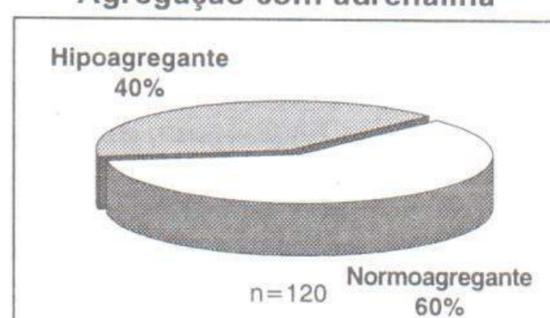
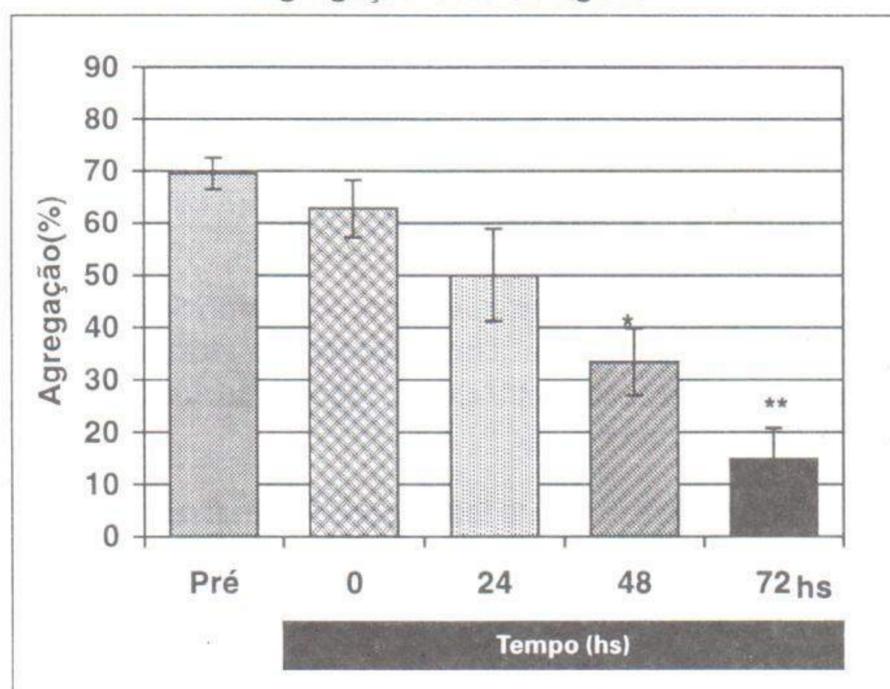


TABELA II
Medida de volume, pH e concentração de plaquetas do Concentrado de Plaquetas(CP) após fracionamento

Indicação	Armazenamento(hs)			
	0	24	48	72
Volume (ml)	50.9 ± 1.4	50.6 ± 1.2	50.2 ± 1.1	50.5 ± 1.4
pH	7.39 ± 0.14	7.53 ± 0.1 *	7.67 ± 0.1*	7.56 ± 0.2*
Plaquetas x10 ⁶ /mm ³	1.74 ± 0.9	1.56 ± 0.7	0.93 ± 0.2*	0.90 ± 0.1*

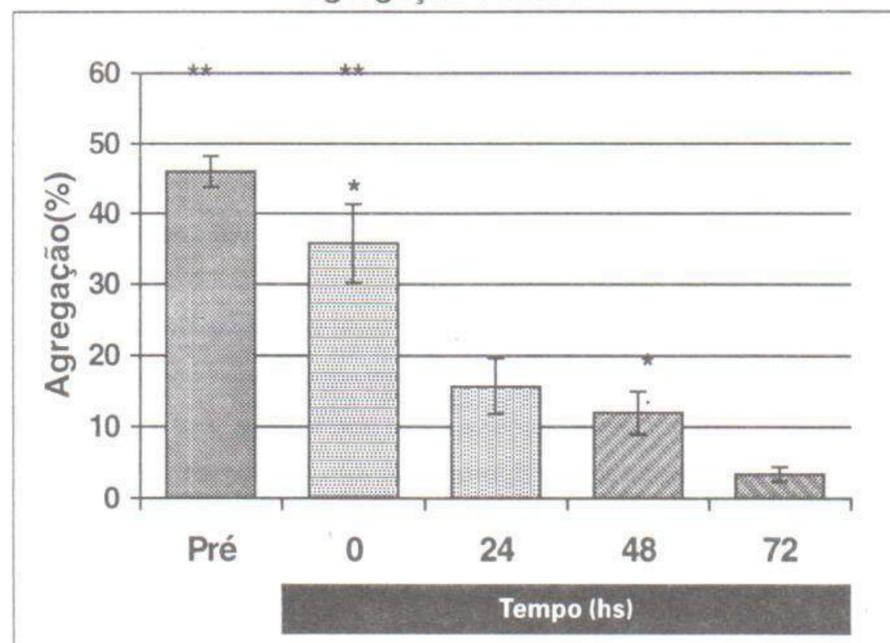
Análise estatística: Student t; p < 0.05*; n=120.

FIGURA 5
Agregação com colágeno



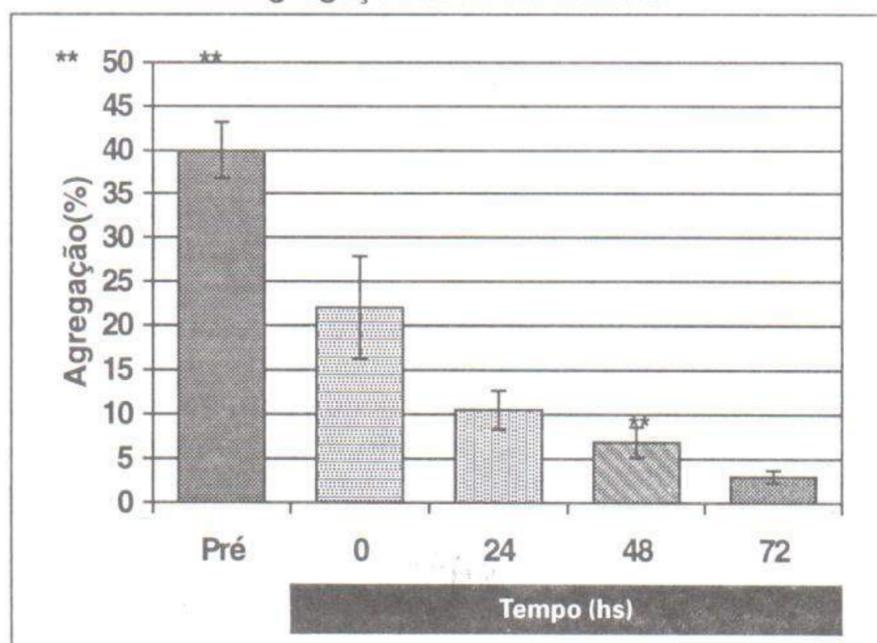
Análise estatística: Student t; p < 0.05*; p < 0.01**; n=120.

FIGURA 6
Agregação com ADP



Análise estatística: Student t; p < 0.05*; p < 0.01**; n=120.

FIGURA 7
Agregação com adrenalina



Análise estatística: Student t; p < 0.05*; p < 0.01**; n=120.

As Figuras 2 a 4 apresentam a distribuição dos doadores durante o processo de triagem segundo a função plaquetária. Os resultados obtidos demonstraram que em média, 80% dos doadores apresentaram-se normoagregantes quando da utilização de colágeno como agente agregante (Figura 2). Já para os estímulos ADP e adrenalina

57% e 60% dos doadores foram normoagregantes (Figuras 3 e 4).

O estudo com concentrado de plaquetas (CP) foi realizado através das medidas de volume, pH, concentração de plaquetas (Tabela II) e agregação plaquetária em diferentes períodos de armazenamento (Figuras 5 a 7). Das 120 bolsas estudadas observou-se um aumento significativo no valor de pH após 24hs de armazenamento, mantendo-se constante após esse período. Já para a contagem de plaquetas houve diminuição significativa após 48hs de armazenamento (Tabela II).

Nas Figuras 5 a 7 estão representados os estudos funcionais do concentrado de plaquetas através de agregação. A agregação plaquetária frente ao colágeno foi avaliada nos diferentes períodos de armazenamento. Observou-se uma hipofunção plaquetária após 48hs de armazenamento (Figura 5). Quando avaliados na presença de ADP e adrenalina observou-se uma hipofunção plaquetária significativa logo após a separação dos CP (Figuras 6 e 7).

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos do estudo pré-fracionamento demonstraram que, quantitativamente, as plaquetas dos doadores admitidos na triagem, encontram-se dentro dos limites de normalidade (Tabela I). Quanto ao estudo funcional, observou-se um padrão variado de respostas frente aos estímulos utilizados (Figura 1). Estes resultados podem ser decorrentes de características individuais para estímulos estudados, já que os agonistas ADP e adrenalina, induzem agregação predominantemente por secreção de substâncias endógenas, sendo, portanto, considerados agonistas fracos. Por outro lado, o colágeno é responsável pela ativação de diversos sistemas metabólicos intracelulares, além da secreção o que o faz um agonista forte^{10,11}. Outro fator que poderia contribuir para a diminuição de resposta frente aos estímulos, seria a automedicação. É bem estabelecido na literatura que o uso de substâncias inibidoras de ciclooxigenase, tais como, o ácido acetilsalicílico, apresentam efeito por um período de 7 a 10 dias. Embora os doadores não relatem o uso dessas substâncias no processo de triagem, sabe-se hoje que, inúmeros fármacos tais como antiinflamatórios, antibióticos e complexos vitamínicos, com potencial antioxidante, podem inibir a função plaquetária^{12,13}. O questionário aplicado na triagem, que aborda fatores como doenças e medicamentos, está de acordo com as determinações do Ministério da Saúde, porém, o principal detalhe desse sistema é que o doador muitas vezes não considera drogas utilizadas com certa rotina, como dipirona, aspirina, paracetamol e complexos vitamínicos como medicamentos e acaba não declarando no questionário. Isto nos parece claro se considerarmos que de todos os 120 doadores estudados no pré-fracionamento apenas um declarou ter utilizado medicamento (antibiótico), mesmo assim, duas semanas antes da doação (dados não mostrados). Aliado a isso, temos o fato das determinações do Ministério da Saúde-1993⁴, liberando para a preparação de concentrado de plaquetas, o sangue de doadores que utilizem medicamentos três dias após o uso. Considerando que a literatura descreve medicamentos que alteram, significativamente, a função plaquetária, por até duas semanas após o seu uso, os nossos resultados demonstram a necessidade de uma reavaliação nas normas preconizadas atualmente pelo Ministério da Saúde.

O estudo após fracionamento demonstrou que o volume médio de concentrados de plaquetas (Tabela II) encontram-se dentro da normalidade para as unidades de concentrado. Já a monitorização do pH, revelou que após 24hs houve um aumento significativo, permanecendo constante após os demais períodos de armazenamento. Embora tenhamos observado um aumento inicial, os resultados obtidos encontram-se dentro dos padrões de qualidade exigidos. A significativa alteração de pH inicialmente observada pode ser decorrente de "lesões de armazenamento" pelas quais as plaquetas estão sujeitas. O aumento de pH, pode também ser decorrente de trocas gasosas, que são maiores no período inicial de armazenamento e tendem a se estabilizar posteriormente^{14,15}.

Avaliando-se a concentração de plaquetas nas bolsas, o rendimento obtido encontrou-se dentro da normalidade até o período de 24 horas de armazenamento e após 48 hs verificou-se uma diminuição significativa na concentração de plaquetas. Esses dados nos sugerem que esse fe-

nômeno é decorrente de lesão da membrana celular que se traduz em nosso estudo por uma diminuição do número de plaquetas.

Analisando os estudos de agregação plaquetária em bolsas de CP, utilizando-se o colágeno como indutor (Figura 5) observamos uma diminuição significativa na agregação 48h ($p < 0,05$) e 72h ($p < 0,01$) após a preparação das bolsas. Já para os demais agonistas observamos que a hipofunção plaquetária inicia-se após a preparação da bolsa e aumenta progressivamente (Figuras 6 e 7). Essa diminuição pode ser justificada pelo processo de separação das bolsas onde ocorre em duas etapas com diferentes centrifugações o que poderia levar à degranulação plaquetária. Outro fator poderia ser decorrente da perda da viabilidade natural das plaquetas, durante o armazenamento, visto que as mesmas encontram-se em um meio diferente do fisiológico, o que leva à ativação plaquetária progressiva e consequente disfunção plaquetária^{14,15,16}.

Segundo Noral e cols¹⁷, de todas as plaquetas transfundidas em paciente (receptor), somente 66% destas circulam livremente e vários são os fatores que podem afetar a função dessas células tais como: infecções e uso de antibióticos. Isto nos faz concluir que é de fundamental importância existir nos Serviços de Hemoterapia, um controle rigoroso sobre os CP. Os resultados do presente trabalho demonstram a necessidade de uma reavaliação para os indicadores laboratoriais necessários à doação de plaquetas, objetivando adequar a qualidade deste hemoderivado em benefício da população.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos funcionários do Serviço de Hemoterapia do Hospital Universitário de Florianópolis, SC, pela colaboração na triagem e separação dos concentrados de plaquetas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Practice Guidelines for Blood Component Therapy. *Anesthesiology* 1996; 84(3):732-747.
2. Office of Medical Applications of Research National Institutes of Health: Platelet transfusion therapy. *JAMA* 1987; 257 (1): 1777-1780.
3. Catherine S. M. What's new in transfusion medicine? *Pediatrics Clin. North Am.* 1996; 43(3): 793-808.
4. Portaria 1.376 de 19 de novembro de 1993, publicada no Diário Oficial nº 229 de 02 de dezembro de 1993.
5. Aubuchon J.P. Platelet transfusion therapy. *Clin. Lab. Med.* 1996; 16(4): 797-816.
6. Holme S., Sawyer S., Heaton, A. Studies on platelets exposed to °C or stored at temperature below 20 °C or above 24 °C. *Transfusion* 1997; 37(4): 5-11.
7. Ashby B, Daniel J. L., Smith J. B. Mechanisms of platelet activation and inhibition. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* 1990; 4(1): 1-9.
8. Lusher JM. Screening and diagnosis of coagulation disorders. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1996; 175(3): 778-786.
9. Born H & Cross MJ. The aggregation of blood platelets. *J. Physiology* 1963; 70(1): 178-195.
10. Holsen G. Platelet secretion and energy metabolism. In: Colman W. *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice*. 3rd ed. Philadelphia: J.B. Lippincott. P. 524-556.
11. Parise LV, Boudgignon-Proudhon C, Keely PJ, Naik UP. Platelet in hemostasis and thrombosis. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas, F. *Wintrobe's: Clinical Hematology* 10th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1999, p.817-874.
12. Packhan, M & Mustard, JF. Pharmacology of platelet-affecting drugs. *Circulation* 1980; 62 (Suppl-V): V26-V41.
13. Steiner, M. Effect of alpha-tocopherol administration of platelet function in man. *Thrombosis Haemost.* 1983; 49(2): 73-83.
14. Rudderow D., Souslau G. Permanent lesions of stored platelets correlate to pH and cell count while reversible lesions do not. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1998; 217(2):219-227.
15. Moroff G., Friedman A., Robkin-Kline L. Factors influencing changes in pH during storage of platelet concentrates at 20- 24 °C. *Vox Sang* 1982; 42(1): 33-45.
16. Rebulli, P. *In vitro* and *in vivo* properties of various types of platelet. *Vox Sang* 1998; 74(2): 217-222.
17. Noral F., Kuentz M., Cordonnier C., Beaujean F., Haioun C., Vernant J. P. Influence of clinical status on the efficiency of stored platelet transfusion. *Br. J. Haematol.* 1994; 86(1): 125-129.

Endereço para correspondência
Profª Drª Teresinha J. C. Neiva
Depto. de Análises Clínicas - CCS - UFSC
Campus Universitário Trindade - Florianópolis - SC - 88010-970
e-mail: neiva@ccs.ufsc.br

Comparação do crescimento em corda do bacilo da tuberculose nos caldos sangue lisado seletivo e Middlebrook*

Comparison of the growth in cord of the tubercle bacilli in a selective lysed blood broth and Middlebrook medium

Luiz Roberto Bigão Giacomelli¹, César Helbel¹, Roger Leandro Nunes Ogassawara¹,
Angela Maria Werneck Barreto² & Celso Luiz Cardoso¹

RESUMO - Com objetivo de utilizar uma técnica de cultura em lâmina em futuros experimentos em nosso laboratório, comparamos neste estudo o crescimento em corda do bacilo da tuberculose em caldo sangue lisado seletivo (SLS) e no meio de Middlebrook (7H9), empregando como inóculo esfregaços de escarro obtidos de 12 pacientes com tuberculose pulmonar. Cada esfregaço foi confeccionado, em duplicata, em uma área de 10x25 mm de uma lâmina 13x76 mm, utilizando-se alça bacteriológica descartável de 10µL. Uma série de esfregaços (n=48) foi fixada pelo calor, outra série (n=48) foi fixada e corada pela técnica de Ziehl-Neelsen e uma terceira série (n=48) não fixada pelo calor, foi usada como controle positivo. As lâminas foram cultivadas a 37°C nos caldos SLS e 7H9 durante 7 dias. Todos os esfregaços controles apresentaram crescimento em corda. Entretanto, nos esfregaços fixados pelo calor a positividade no caldo SLS foi de 12/12 (100%) contra 10/12 (83%) no meio 7H9. Nenhum dos esfregaços fixados e corados (Ziehl-Neelsen) mostrou crescimento nas culturas em lâminas. Os resultados sugerem que o caldo seletivo sangue lisado é levemente superior ao meio de Middlebrook para o cultivo em lâmina de esfregaços do bacilo da tuberculose fixados pelo calor.

UNITERMOS - Bacilo da tuberculose, crescimento em corda, caldo sangue lisado seletivo, meio de Middlebrook.

ABSTRACT - Aiming at using the slide culture technique in future experiments in our laboratory, we compared in this study the growth in cord of tubercle bacilli in a selective lysed blood broth (SLB) and in Middlebrook (7H9) medium. Sputum smears from 12 patients with pulmonary tuberculosis were used as inocula. Duplicates of each smear were made by spreading the sputum specimen over a 25x10 mm area of a 76x13 mm glass microscope slide, using a 10µL disposable loop. A smears series (n=48) was heat-fixed, another series (n=48) was heat-fixed and stained using the Ziehl-Neelsen method, and a third series (n=48) was not heated and acted as a positive control. The slides were cultured in SBL broth and Middlebrook medium at 37°C for 7 days. All control smears produced cord-forming microcolonies on slide cultures. However, in smears heat-fixed the positivity in SBL broth was of 12/12 (100%) against 10/12 (83%) in Middlebrook medium. None of the Ziehl-Neelsen stained sputum smears showed growth on slides cultured in both SBL broth and Middlebrook medium. The results suggest that SBL broth is slightly superior compared to Middlebrook medium for the slide culture of the tubercle bacilli in heat-fixed sputum smears.

KEY WORDS - Tubercle bacilli, growth in cord, selective lysed blood broth, Middlebrook medium.

INTRODUÇÃO

O bacilo da tuberculose, quando cultivado em lâmina, apresenta um crescimento típico em corda cuja intensidade depende, entre outros fatores, da qualidade nutritiva do caldo que banha o suporte sólido (lâmina) que contém o esfregaço microbiano.^{1,4} Com objetivo de utilizar a técnica de cultura em lâmina em futuros experimentos em nosso laboratório, comparamos no presente trabalho o crescimento em corda do bacilo da tuberculose em caldo sangue lisado seletivo (SLS) e no clássico meio de Middlebrook (7H9) adicionado de antibióticos, utilizando

do como inóculo, esfregaços de escarro fixados pelo calor e esfregaços corados pela técnica de Ziehl-Neelsen.²

MATERIAIS E MÉTODOS

• Amostras de escarro

Foram utilizadas 12 amostras de escarro coletadas de pacientes, em fase de diagnóstico de tuberculose pulmonar, cadastrados no Laboratório de Bacteriologia do Centro de Referência Prof. Hélio Fraga, Rio de Janeiro, RJ. As amostras foram acondicionadas em caixa de isopor com gelo, enviadas por via aérea para Maringá e analisadas

Recebido em 04/7/2000
Aprovado em 22/8/2000

*Trabalho realizado no Laboratório de Microbiologia, Sala 116, Bloco I-90, Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá (UEM)
Av. Colombo 5790, Campus Universitário, Maringá, PR, 87020-900 - Fone (0xx44)262-4429 - Fax (0xx44)261-4490

¹Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo, 5790 - Maringá, PR, 87020-900

²Centro de Referência Prof. Hélio Fraga, Estrada de Curicica, 2000 - Rio de Janeiro, RJ, 22710-550

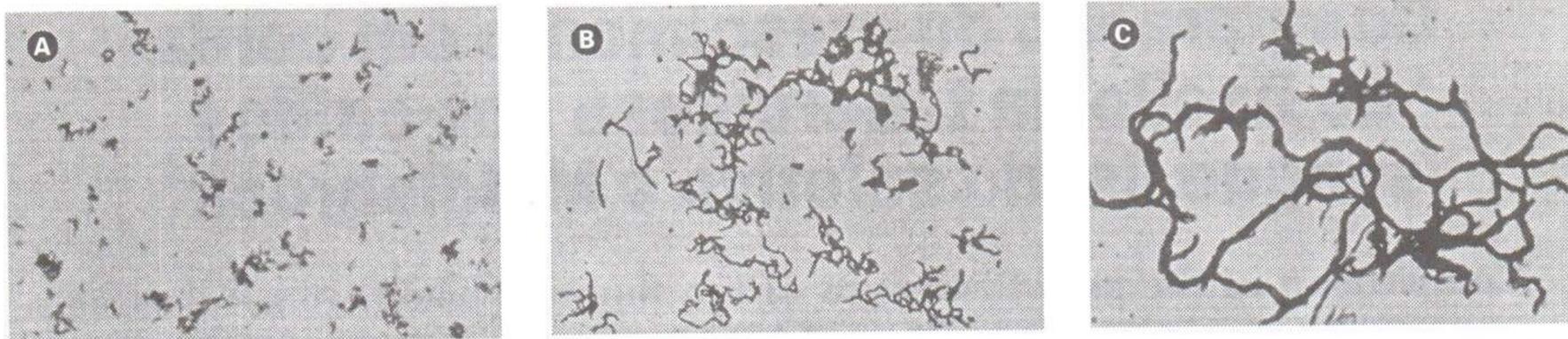


Figura 1 - Cultura em lâmina positiva. A - Leitura inicial do esfregaço de escarro com objetiva de 10x (100 aumentos); B - Crescimento em corda do bacilo da tuberculose observado com objetiva de 20x (200 aumentos); C - Crescimento em corda observado com objetiva de 40x (400 aumentos). Foi utilizado um microscópio Olympus modelo BX50F-3 (Olympus America Inc., Lake Success, N. Y., USA) e filme Plus-X pan ISO 125/22 (Eastman Kodak Company, Rochester, N. Y., USA).

imediatamente após o recebimento. Todos os espécimes foram baciloscopia positiva (3+) e posteriormente confirmaram cultura positiva para *Mycobacterium tuberculosis*.²

• Preparo dos esfregaços

Cada esfregaço foi confeccionado, em duplicata, em uma área de 10x25mm de uma lâmina 13x76mm, utilizando-se alça bacteriológica descartável de 10 µL. O procedimento foi realizado em câmara de fluxo laminar (Pachane Indústria e Comércio Ltda., Piracicaba, SP).

• Cultura em lâmina

O caldo SLS foi preparado com base nas técnicas descritas por Stritch & Dickinson⁴ e Allen¹. Para cada volume de sangue humano, obtido a partir de bolsas excluídas de uso pelo Hemocentro Regional de Maringá, adicionou-se igual volume de água destilada estéril contendo 500 mg/L de saponina (Inlab, São Paulo, SP, Brasil), 200 U/mL de polimixina B e 10 mg/L de trimetoprim (Laboratórios Frumtost S. A., Indústrias Farmacêuticas, Guarulhos, SP, Brasil), 100 mg/L de carbenicilina (Laboratórios Pfizer Ltda., Guarulhos, SP, Brasil) e 10 mg/L de anfotericina B (Bristol-Myers-Squibb Brasil S.A., Santo Amaro, SP, Brasil). O meio de Middlebrook (7H9) foi preparado segundo as recomendações do fabricante³. Volumes de 4,5 mL dos meios de cultura foram distribuídos em tubos 16x150 mm, de forma a cobrir 3/4 do esfregaço na lâmina. Após incubação a 37°C durante 7 dias, as lâminas foram removidas do meio de cultura, enxaguadas em água destilada, descontaminadas com hipoclorito de sódio 5% por 10 minutos e coradas pelo método de Ziehl-Neelsen.²

• Observação microscópica

Toda a superfície do esfregaço foi examinada ao microscópio óptico comum (Olympus CBA - Micronal S. A., Aparelhos de Precisão, São Paulo, SP), utilizando-se objetiva de 10x (100 aumentos) (Figura 1A) e a presença de microcolônias do bacilo da tuberculose formando cordas, i.e., um teste positivo, foi confirmado com objetivas de 20x (200 aumentos) (Figura 1B), 40x (400 aumentos) (Figura 1C) e 100x (1000 aumentos). O teste negativo foi caracterizado pela ausência de formação do crescimento em corda.

• Experimento

Uma série de esfregaços (n=48) foi fixada pelo calor, passando-se a lâmina por 3 vezes sucessivas na chama do bico de Bunsen, outra série (n=48) foi fixada pelo calor e corada pela técnica de Ziehl-Neelsen e uma terceira série (n=48) não fixada pelo calor, foi usada como controle positivo. A metade dos esfregaços de cada série foi cultivada em caldo SLS e a outra metade em meio 7H9.

• Dados bacteriológicos adicionais

Todas as amostras de escarro analisadas no presente estudo, após tratamento com hidróxido de sódio a 2%, foram inoculadas em Loewenstein-Jensen e incubadas na estufa a 37°C durante 8 semanas. As culturas positivas foram identificadas bioquimicamente como *Mycobacterium tuberculosis* pelos testes de produção da niacina e inibição do crescimento em Loewenstein-Jensen contendo 500µg/mL de ácido p-nitro-benzóico.^{2,5}

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os esfregaços controle apresentaram crescimento em corda nos meios ensaiados (Figura 1A-C). Entretanto, nos esfregaços fixados pelo calor, a positividade no caldo SLS foi de 12/12 (100%) contra 10/12 (83%) no meio 7H9.

Conforme o esperado, nenhum dos esfregaços fixados pelo calor e corados pelo método de Ziehl-Neelsen mostrou crescimento nas culturas em lâmina. Provavelmente, nestes esfregaços, as células do bacilo da tuberculose foram mortas pela ação do fenol, presente na concentração de 5% na fucsina de Ziehl usada em nosso estudo.²

Apesar das micobactérias serem microrganismos aeróbios estritos⁶, não foram observadas diferenças na distribuição das cordas da região do esfregaço imersa em caldo (3/4) e da região não imersa (1/4). Entretanto, as cordas presentes nos esfregaços cultivados no caldo SLS foram, aparentemente, maiores e em maior número do que aquelas observadas nas lâminas cultivadas em meio 7H9.

Os resultados obtidos em nosso estudo sugerem que o caldo seletivo sangue lisado é levemente superior ao meio de Middlebrook para o cultivo em lâmina de esfregaços do bacilo da tuberculose fixados pelo calor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allen, B. W. Survival of tubercle bacilli in heat-fixed sputum smears. *J. Clin. Pathol.*, 34: 719-722, 1981.
- Brasil. Ministério da Saúde. *Manual de Bacteriologia da Tuberculose*. 2ª ed., Rio de Janeiro, 115 p., 1994.
- Difco. *Difco Manual. Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiology*. 10ª ed., Detroit, Difco Laboratories, p. 567-569, 1984.
- Stritch, J. H. & Dickinson, J. M. Slide culture estimation of sensitivity of *Mycobacterium tuberculosis*. *Ir. J. Med. Sci.*, 6: 237-240, 1958.
- Strong, B. E. & Kubica, G. P. Isolation and Identification of *Mycobacterium tuberculosis*. *A Guide for the Level II Laboratory*. Atlanta, Center for Disease Control, 143 p., 1981.
- Trabulsi, L. R.; Alterthum, F.; Gompertz, O.F. & Candeias, J. A. N. *Microbiologia*. 3ª ed., São Paulo, Atheneu, p. 303-314, 1999.

Endereço para correspondência

Dr. Luiz Roberto Bigão Giacomelli

Av. Dr. Luiz Teixeira Mendes 680, Apto.302, Zona 4, Maringá, PR, 87015-250

Fone: (0xx44) 225-3839 • E-mail: betofla@teracom.com.br

Esteróides anabolizantes e suas alterações em análises clínicas

Anabolic steroids and its alterations in clinical chemistry

Estefânia Perin Fonseca¹ & Flavia Valladão Thiesen²

RESUMO - Os esteróides anabolizantes são compostos sintéticos semelhantes à testosterona e apresentam efeitos anabolizantes e androgênicos. Os esteróides anabolizantes possuem alguns usos terapêuticos, mas apresentam muitos efeitos tóxicos: alguns reversíveis, como diminuição na produção de espermatozoides e impotência; outros irreversíveis, como ginecomastia e calvície. Essas substâncias são utilizadas por jovens e atletas, em dosagens muito elevadas, na busca de uma melhora no desempenho e aparência física. Laboratorialmente, é possível observar alterações bioquímicas e hematológicas, entre elas diminuição do HDL colesterol, aumento de enzimas hepáticas, glicose e hematócrito, causadas pelo uso destas substâncias. Por isso, é importante conhecer e identificar essas alterações, para alertar médicos sobre sua possível causa, o que pode gerar mudanças no diagnóstico e tratamento de pacientes.

PALAVRAS-CHAVE - Testosterona; esteróides anabolizantes; alterações bioquímicas; alterações hematológicas.

SUMMARY - Anabolic steroids are synthetic compounds similar to testosterone with anabolic and androgenic effects too. They have some therapeutic uses, but they also display many toxic effects; some of them are reversible, like impotence and decrease of the number of spermatozoons, and others are irreversible, like gynaecomasty and balding. These substances are often employed by youth and athletes, in very high doses, in order to improve appearance and performance. Due to exposure to anabolic steroids it is possible to observe some biochemical and haematological alterations, like lower levels of HDL cholesterol, and increasing of liver enzymes, glucose and haematocrit. It is important to be aware of these alterations and to know how to identify them, since they may change diagnoses and treatment in some situations.

KEY WORDS - Testosterone, anabolic steroids, biochemical changes, haematological changes.

INTRODUÇÃO

Os esteróides anabolizantes são compostos sintéticos estruturalmente relacionados à testosterona, hormônio do sexo masculino.^{12, 18} Eles têm dois tipos de efeitos no organismo: promovem o desenvolvimento das características sexuais secundárias masculinas (efeitos androgênicos) e aceleram o crescimento de vários tecidos, incluindo músculos e células sanguíneas (efeitos anabolizantes).^{12,16} A diferença entre os diversos esteróides anabolizantes é a proporção de efeitos androgênicos e anabolizantes apresentada.

Preparações comerciais de esteróides anabolizantes são empregadas desde o início do século, quando eram utilizadas com o intuito de promover cicatrização e acelerar a recuperação dos pacientes. Posteriormente, a identificação de sua capacidade de alterar o humor levou-os a serem empregados também no tratamento da depressão. Em 1939, após serem realiza-

das experiências com galos, foi observado que os esteróides anabolizantes podiam melhorar o desempenho físico. Há evidências de que os mesmos foram administrados às tropas germânicas durante a II Guerra Mundial com o objetivo de aumentar a resistência e a hostilidade.¹⁸ Atualmente os maiores usuários são atletas e jovens, principalmente homens com idades entre 18 e 34 anos, que desejam incrementar seu desempenho, aumentar sua massa muscular e resistência e melhorar a aparência física. Para isso, usam dosagens muito elevadas, superiores àquelas recomendadas pelos clínicos, sendo consideradas, inclusive, de grande risco, pois trazem sérias conseqüências para a saúde. Este fato impede os pesquisadores de realizarem estudos com humanos aplicando doses muito elevadas. Aparentemente os anabolizantes aumentam a massa corporal magra, a força e a agressividade, mas estudos rigidamente controlados nunca provaram isso.¹⁷

Recebido em 28/8/2000
Aprovado em 04/10/2000

¹Bolsista de Iniciação Científica/Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS)

²Professora de Toxicologia, Instituto de Toxicologia e Faculdade de Farmácia, PUCRS. Av. Ipiranga, 6681, Porto Alegre 90619-900 RS, Brasil. E-mail: fvthiesen@pucrs.br

É importante conhecer os efeitos destas substâncias no organismo e as alterações provocadas em exames laboratoriais, considerando-se que, nos últimos anos, especialmente em 1999, têm havido um aumento significativo no seu uso abusivo por indivíduos jovens e saudáveis.³⁷

Características farmacológicas dos esteróides anabolizantes

A testosterona é o principal androgênio no homem. Aproximadamente 7mg são produzidos por dia pelos testículos.¹⁷ A dihidrotestosterona (DHT), o principal androgênio intracelular presente nos tecidos reprodutivos, é mais potente que a testosterona, e seus níveis elevam-se quando ocorre redução da testosterona pela 5 α -redutase e, em menor grau, após a redução da androstenediona. Dehidroepiandrosterona (DHEA), sulfato de DHEA e androstenediona são androgênios fracos produzidos na glândula adrenal. Eles exercem uma função menor na manutenção sexual no homem.^{11,12}

No presente contexto, os androgênios naturalmente produzidos são referidos como endógenos, para distingui-los dos sintéticos ou exógenos comercializados pela indústria farmacêutica. Os androgênios endógenos também são usados como matéria-prima na produção de compostos ou sintéticos. Os esteróides anabolizantes androgênicos apresentam várias ações no organismo, classificadas conforme o local em que são exercidas. Os mecanismos das ações anabolizantes e androgênicas são semelhantes, sendo a diversidade de resultados determinada pelo órgão onde se processa a atividade hormonal.³⁰ Desse modo, nenhum agente pode ser considerado exclusivamente anabolizante.¹⁸ A testosterona é uma molécula com dezenove átomos de carbono sintetizada a partir do colesterol originado de depósitos de acetato nos testículos. A conversão do colesterol em pregnenolona ocorre na mitocôndria. De lá, a pregnenolona é transportada ao retículo endoplasmático, onde três etapas de síntese a convertem em testosterona. Uma vez produzida, ela é imediatamente lançada à circulação, e aproximadamente 50% encontra-se firmemente ligada a uma glicoproteína produzida no fígado - a globulina ligante do hormônio sexual (SHBG). Quantidades muito menores circulam ligadas à albumina, entretanto esta ligação é muito fraca. A testosterona livre penetra nas células por difusão simples e liga-se a um receptor de esteróide no citosol, o qual é transportado para o núcleo, onde inicia a transcrição do DNA.¹⁷ Dependendo do tipo de célula em que se encontra, ela pode atuar na sua forma original ou sofrer a ação de enzimas, como a 5 α -redutase, que a converte em diidrotestosterona, e o complexo aromatase, que a transforma em estradiol. Os esteróides são então conduzidos ao núcleo celular por receptores de androgênios ou de estrogênios e, no interior deste, ligados a sítios específicos nos cromossomos, onde aumentam a atividade da RNA polimerase com um incremento da síntese de RNA e de proteínas específicas. Essa atividade é traduzida em um aumento de aminoácidos incorporados a proteínas e

numa intensificação do metabolismo protéico, incluindo a síntese de proteínas contráteis, como a actina e a miosina, e de enzimas isoladas. Essa ação provoca um aumento de massa muscular.³⁰

Quando a testosterona é utilizada via oral, aproximadamente metade sofre metabolismo de primeira passagem, fato que exige a administração de doses maiores a fim de obter efeito terapêutico.¹⁷ No entanto, esteróides esterificados na 17 β -hidroxila, devido a suas propriedades lipofílicas, podem ser administrados via parenteral. A formação de ésteres não altera a taxa anabólica, apenas prolonga a permanência do anabolizante no organismo, sendo que a velocidade de sua liberação dos locais de armazenamento depende do número de carbonos do ácido carboxílico utilizado na esterificação. A meia-vida biológica da nandrolona, por exemplo, pode ser alterada de algumas horas para até mais de 500 horas em função do tipo de éster formado.¹² Entre os principais metabólitos urinários da testosterona encontram-se a androsterona e a etiocolanolona e, em menor quantidade, o androstenadiol e estrógenos. Noventa por cento dos metabólitos encontram-se conjugados com o ácido glicurônico ou com sulfatos, e aproximadamente 6% é excretado não-conjugado nas fezes.³⁰ Androsterona e etiocolanolona, entre outros compostos, são medidos em conjunto com 17-cetosteróides urinários nos testes clínicos usuais, sendo que muitos apresentam baixa atividade hormonal ou até mesmo atividade nula.^{12,16,30} Foram feitas muitas alterações na molécula de testosterona para diminuir seus efeitos androgênicos e manter ou aumentar os efeitos anabolizantes. Atualmente, existe mais de uma centena de esteróides anabolizantes sintéticos, e um número consideravelmente grande de seus metabólitos tornaram-se conhecidos. Dentre os anabolizantes mais utilizados encontram-se os 17- α -metila derivados da testosterona, como por exemplo, metiltestosterona, fluoximesterona, metandrostenolona, oxandrolona, oximetolona e estanozolol; os derivados da 17- α -etila testosterona, como o etilestrenol e noretandrolona, e os derivados 1-metilados, como metenolona e mesterolona, todos de uso por via oral. Entre os injetáveis, encontram-se os ésteres da testosterona (propionato, enantato, nicotinato e cipionato) e os ésteres da 19-nortestosterona (undecanoato de nandrolona e fenilpropionato de nandrolona). A boldenona, inicialmente de vasto emprego veterinário, tem sido atualmente utilizada com propósito de dopagem.¹⁷

Efeitos tóxicos

O uso abusivo de esteróides anabolizantes tem sido associado a uma ampla gama de efeitos tóxicos. Estudos feitos em ratos, usando doses comparáveis às empregadas pelos atletas, causaram uma elevada porcentagem de mortes prematuras.³⁷ O abuso de esteróides gera um distúrbio na produção hormonal do corpo, causando efeitos reversíveis, como produção reduzida de espermatozoides, atrofia testicular, impotência, infertilidade, dificuldade ou dor para urinar e aumento

de próstata. Entretanto, alguns de seus efeitos são irreversíveis, entre eles ginecomastia e calvície. Em mulheres, o abuso gera masculinização, amenorréia, diminuição dos seios e alteração da distribuição da gordura corporal, aumento da espessura da pele, aumento do clitóris, engrossamento da voz, além de crescimento de pêlos, principalmente nas pernas, braços e face, ao mesmo tempo em que ocorre uma queda de cabelos com características masculinas. Em ambos os sexos, pode ser observado aumento no tamanho e na secreção das glândulas sebáceas, gerando a formação de acne, cistos sebáceos, furúnculos, maior oleosidade da pele e cabelos e dermatite seborréica. No sistema esquelético, causam interrupção no crescimento e ruptura de tendões principalmente durante a execução de exercícios físicos.^{15,17,18,20,21,37,43} O aumento de peso verificado em usuários de anabolizantes deve-se principalmente à retenção de sódio e líquidos.³⁰ Atualmente, o abuso de esteróides anabolizantes vem sendo associado também a doenças cardiovasculares e doença tromboembólica, incluindo ataques cardíacos, devido ao aumento da pressão sanguínea e da fibrinólise. O risco de desenvolvimento de aterosclerose é promovido pelo aumento do LDL colesterol e declínio dos níveis de HDL colesterol.^{14,24,29,37,44} Estudos mostram um alto grau de toxicidade quando células hepáticas são expostas a esteróides 17-*alquilados*, mas o mecanismo dessa toxicidade ainda não é conhecido.¹⁷ Adenomas hepáticos, colestase, hiperplasia nodular regenerativa, carcinoma hepatocelular e peliose hepática, uma doença rara caracterizada por cistos esplênicos ou pela falta de sangue hepático, são associadas ao uso abusivo de esteróides, principalmente os modificados na posição do carbono 17. O tumor e a ruptura dos cistos podem gerar hemorragias internas.^{1,7,8,9,10,35} Há relatos de carcinoma nas células renais induzido por exposição excessiva a esteróides anabolizantes.^{5,6} Os esteróides injetáveis possibilitam, ainda, a contaminação pelos vírus do HIV, hepatites B e C e endocardite, devido ao uso de seringas não-esterilizadas e preparações produzidas ilegalmente.^{18,37}

Há evidências de que os anabolizantes atuam sobre o comportamento de seus usuários, tornando-os agressivos e violentos. Esses efeitos são associados ao número de doses semanais. Quando cessa o uso da droga, os indivíduos tornam-se clinicamente deprimidos, sintoma associado à síndrome de abstinência e à dependência. Pode ocorrer também ciúme patológico, irritabilidade extrema, ilusões, distorção do julgamento em relação a sentimentos de invencibilidade, distração, confusão mental e problemas de memória.^{26,34,37,42}

Usos terapêuticos

Os esteróides anabolizantes são indicados no tratamento da anemia aplástica. Essa aplicação provém de observações de que o hipogonadismo e a castração estão associados à redução de células vermelhas, que é corrigida após a reposição de androgênios. Além disso, a hemoglobina e o hematócrito aumentam quando anabolizantes são administrados a homens e mulhe-

res eugonadais. Os efeitos primários dos androgênios na massa de células vermelhas é o aumento da produção de eritropoetina, mediada por receptores de androgênios nos rins. Evidências experimentais mostram que análogos da testosterona 5 β -reduzidos estimulam diretamente a produção de hemoglobina por um mecanismo independente da eritropoetina.¹⁷

Os esteróides anabolizantes mais usados no monitoramento da anemia são oximetolona, fluoximesterona, noratandrolona, estanozolol e decanoato de nandrolona. Ésteres de testosterona e nandrolona vêm sendo empregados no tratamento de uma variedade de condições incomuns, como a trombose venosa profunda, devido ao aumento da atividade fibrinolítica, ação benéfica a esses pacientes. Em homens idosos, os ésteres de testosterona são indicados no tratamento do hipogonadismo e da osteoporose, uma vez que o decaimento dos níveis de testosterona e de massa óssea levam ao desenvolvimento de osteoporose. Estudos clínicos e "*in vitro*" evidenciaram que a testosterona e a DHT têm influência na manutenção da saúde óssea e na correção da osteoporose associada ao hipogonadismo. Esteróides anabolizantes também podem aumentar a massa óssea de mulheres com osteoporose pós-menopausa, contudo geram muitos efeitos adversos.^{11,12,17} A oxandrolona é o esteróide anabolizante mais freqüentemente empregado no tratamento da síndrome de Turner - caracterizada por baixa estatura, mau desenvolvimento sexual e deformidade nos cotovelos. É muito utilizada também no atraso constitucional do crescimento e da puberdade (CDGP); nesse caso, o tratamento deve ser descontinuado antes dos avanços da maturação esquelética para o ponto de fechamento das epífises, evitando dessa forma a diminuição da estatura final.

Receptores de androgênios foram identificados em osteoblastos; quando estes são expostos à dihidrotestosterona proliferam-se e produzem fosfatase alcalina, um marcador da atividade osteoblástica óssea. Testosterona e estanozolol aumentam a atividade da creatina quinase (CK) nos ossos e estimulam a incorporação da H-timidina no interior do DNA.¹⁷ Doses fisiológicas administradas a homens hipogonádicos causam, além de virilização, que é um dos efeitos desejados, ganho de peso, retenção de nitrogênio e sódio e aumento de massa óssea e musculatura, principalmente na musculatura peitoral e proximal dos membros superiores. Nesses casos observa-se um maior diâmetro das fibras e fibrilas musculares.

Estudos mostram que a administração de androstenediona previne o aumento característico de corticosterona sérica observada durante a infecção pelo vírus influenza A; isso sugere que a androstenediona possa desempenhar um papel importante na resposta inflamatória e na resposta imune do hospedeiro, em contraste com os corticosteróides.³¹

O uso de esteróides anabolizantes no monitoramento da hepatite alcoólica induz ao balanço positivo de nitrogênio e, possivelmente, a um aumento no bem-estar geral. Estudos recentes mostram que a oxandrolona produz uma melhora nos parâmetros laboratoriais

indicativos da hepatite.¹⁷ Pacientes com HIV geralmente apresentam hipogonadismo, associado a alterações na composição corporal e envolve a depleção da massa de células corporais; além disso, estes pacientes geralmente estão desnutridos. Nesses casos, os anabolizantes podem ser usados combinados a outros suplementos para aumentar força e massa muscular.^{22,38,39}

Interferência nas análises bioquímicas e hematológicas

Não existem dados sistemáticos de estudos de administração crônica de esteróides anabolizantes que demonstrem de forma efetiva alguma diferença entre os vários componentes desta classe com respeito à curva dose versus resposta para seus efeitos nas análises bioquímicas e hematológicas. Quando os efeitos envolvem órgãos reprodutivos e características sexuais secundárias, o mecanismo é simplesmente uma extensão das ações fisiológicas normais dos androgênios endógenos. Dessa forma, compreende-se a razão de doses farmacológicas em mulheres produzirem virilização.¹⁷

Alterações em análises bioquímicas

O uso abusivo de esteróides anabolizantes inibe a produção de hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo estimulante (FSH) e, provavelmente, hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH); conseqüentemente seus níveis plasmáticos diminuem juntamente com os níveis de testosterona endógena.^{17,28} Na mulher, ocorre também a diminuição da progesterona, e esta associação promove alterações na menstruação e amenorréia.⁴ Estudos de parâmetros endocrinológicos feitos com mulheres apontaram para uma diminuição dos níveis de globulina ligante de hormônio sexual (SHBG) e de proteínas ligantes da tireóide (TBG), como mecanismo compensatório dos níveis excedentes de testosterona sérica.²⁷ É freqüente ocorrer também aumento na taxa metabólica basal e diminuição dos níveis plasmáticos de T3 e T4.^{17,25} Há relatos de resistência à insulina e diminuição da tolerância à glicose com o uso de esteróides 17-alquilados.¹⁷ Estudos envolvendo homens e mulheres, após a administração de testosterona, evidenciaram aumento nos níveis de glicose, na concentração de insulina e também uma maior resistência à insulina, ao mesmo tempo em que foi observada diminuição nos níveis de SHBG. Parece haver uma relação entre o aumento da resistência à insulina e a diminuição dos níveis de SHBG.

Dados sugerem que a insulina estimula a produção de testosterona, suprimindo o organismo de SHBG tanto em homens normais como em obesos. Foi verificado que homens hipogonadais de meia-idade, obesos têm maior sensibilidade à insulina.¹⁴ O hormônio do crescimento (GH) aumenta a concentração sérica de fator inibidor do crescimento (IGF-I), enquanto o uso de anabolizantes diminui essas concentrações.¹⁹ O tecido adiposo contém receptores de androgênios, e

biópsias revelam um marcada diminuição na atividade da lipoproteína lipase.¹⁷

Quanto aos lipídeos, a diminuição do HDL colesterol é o efeito melhor observado em pacientes que fazem uso de esteróides anabolizantes via oral. Há relatos de que a subfração HDL2 é a mais afetada, ocorrendo ainda redução da apoproteína A-I e aumento da apoproteína B. Ésteres de testosterona diminuem o HDL colesterol em 5 a 16%, enquanto o decanoato de nandrolona administrado via intramuscular não exerce nenhuma influência sobre ele. Variações nas concentrações de hormônios sexuais podem ter efeitos sobre a lipoproteína (a) (Lp(a)) sérica. Também é observado um aumento nos níveis de colesterol total e triglicerídeos.^{2,17,23,27,40,41,44} O declínio do HDL pode ser explicado pelo aumento da atividade de triglicerol lipase hepática (HTGL), enzima envolvida no catabolismo do HDL colesterol. O aumento da atividade da HTGL é muito maior com esteróides anabolizantes administrados oralmente (100 a 300%) do que com ésteres de testosterona (0 a 21%).^{17,41} Os efeitos combinados dos esteróides anabolizantes orais aumentam a proporção do LDL/HDL que, juntamente com a diminuição do HDL, são fatores de risco para doenças cardiovasculares. Alguns estudos relatam o aumento do LDL após o uso de esteróides anabolizantes orais, como o estanozolol, mas os efeitos sobre essa fração do colesterol não estão bem esclarecidos.¹⁷

Os anabolizantes são associados a elevações e reduções de proteínas plasmáticas. Eles aumentam os níveis de haptoglobina, proteínas ligadas ao ácido salicílico, plasminogênio e b-glicuronidase e diminuem os níveis de vitamina D ligada à proteína, SHBG, TBG e albumina sérica.^{17,23} O efeito adverso mais comum dos esteróides anabolizantes no fígado é o aumento das aminotransferases transaminase glutâmica oxalacética e transaminase glutâmica pirúvica (TGO e TGP).¹⁷ Estudos realizados três meses após a suspensão do uso crônico de danazol evidenciaram um aumento severo nos níveis de bilirrubina e sais biliares séricos totais e um leve incremento das transaminases, enquanto os níveis de a-glutamyltransferase (a-GT) e fosfatase alcalina não foram alterados.¹ Em pesquisa realizada para reavaliar os valores de corte em doadores de sangue, foram observados níveis elevados de TGP em usuários de anabolizantes.¹³

Alterações em análises hematológicas

Estudos indicam que os esteróides anabolizantes possuem ação trombogênica, com seus usuários apresentando anormalidades significativas na desintegração dos produtos da fibrina e de outros fatores de coagulação. Contudo, outras pesquisas demonstram um aumento na atividade do sistema fibrinolítico medida pelo tempo de lise da euglobulina, um achado que se sabe estar associado aos esteróides. Além disso, a testosterona tem mostrado exercer uma função regulatória na expressão de receptores de tromboxano A2 em plaquetas humanas, o que pode contribuir para sua trombogenicidade. Está confirmado que os esteróides

anabolizantes orais aumentam a atividade fibrinolítica, diminuem o fibrinogênio e aumentam o plasminogênio; entretanto, tais efeitos são temporários.¹⁷ Ocorre também uma elevação na concentração de hemoglobina, o que conseqüentemente eleva o hematócrito.⁴⁰ Estudos realizados com o objetivo de investigar as mudanças no número de células progenitoras usaram a 19-nandrolona administrada a ratos. Foi possível observar um aumento de unidades formadoras de colônias como CFU-E (*erythroid colony-forming units*), BFU-E (*erythroid burst-forming units*) e CFU-GM (*granulocytic-macrophage committed progenitor cells*) na medula e no baço. Esse fato comprova a influência dessa substância na produção de células progenitoras.³³

Diagnóstico laboratorial do uso de esteróides anabolizantes

Para realizar a detecção do uso de esteróides anabolizantes, a maioria dos programas monitora a proporção de testosterona para epitestosterona que é excretada na urina. Em homens jovens saudáveis, essa proporção é sabidamente menor de 2:1, mas o Comitê Olímpico Internacional aceita qualquer valor menor que 6:1 como normal devido à possível variação interindividual.¹⁷ A investigação de uso de esteróides anabolizantes pode ser também realizada através da proporção urinária de testosterona para hormônio luteinizante, sabendo-se que este é um teste mais específico e sensível para um tempo mais longo de investigação do que a dosagem da proporção urinária de testosterona para epitestosterona.³²

Alguns esteróides podem ser analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), e tem sido possível detectar os esteróides 17-metil, 17-etil e 19-nortestosterona por radioimunoensaio (RIA), apesar de o último método apresentar baixa especificidade. Contudo, esses métodos não são capazes de confirmar uma amostra presuntivamente positiva. Nesse caso, o mais indicado é a cromatografia gasosa acoplada a espectrofotômetro de massas (CG/EM), técnica com alta sensibilidade e especificidade. A CG/EM pode ser utilizada para realizar análises qualitativas e quantitativas, característica fundamental para diferenciar compostos endógenos de exógenos.

Conforme mencionado anteriormente, os esteróides anabolizantes são extensamente metabolizados: podem sofrer hidroxilação, redução, oxidação e conjugação no organismo humano. Na urina os esteróides podem ser encontrados de dois modos: livres e conjugados. A metandiona, a oxandrolona, a fluximesterona, o estanozolol, a diidroclometiltestosterona e a formidienolona podem ser detectadas facilmente na fração não-conjugada. Esses esteróides têm um grupo 17 β -hidroxi-17 α -metil em sua estrutura. No entanto, os demais anabolizantes (clostebol, mesterolona, oximesterolona, boldenona, metenolona, oximetolona, nandrolona, testosterona, metiltestosterona, bolasterona, noratandrolona e dromostanolona) são excretados principalmente na forma de glicuronídeos. A CG/EM foi

usada como teste de rotina pela primeira vez nos Jogos Olímpicos de Atlanta, em 1996. Anteriormente era usada apenas com teste confirmatório. Um avanço pode ser observado com a introdução da CG/EM/EM com quadropólo de íons e da CLAE/EM/EM, pois estas técnicas são capazes de determinar diretamente a concentração de esteróides conjugados na urina.³ A detecção da gonadotrofina coriônica humana (HCG) é realizada por métodos imunológicos ou CG/EM, método altamente específico e cerca de 100 vezes mais sensível. A dificuldade de padronização dos imunoenaios para a determinação do HCG específico é devida às várias formas moleculares do HCG, o que produz reações-cruzadas de vários graus. Por isso, a recomendação do Comitê Olímpico Internacional é a de que os resultados dos imunoenaios sejam confirmados por CG/EM, para evitar resultados falsos-positivos.³⁶

CONCLUSÕES

Os diversos efeitos tóxicos dos esteróides anabolizantes estão bem estabelecidos e justificam a preocupação crescente em divulgá-los para prevenir seu uso abusivo. A detecção do uso dessas substâncias não pode ser realizada na maior parte dos laboratórios de análises clínicas; no entanto, é importante conhecer as alterações nos exames bioquímicos e hematológicos decorrentes da exposição a essas substâncias, as quais, em síntese, são: diminuição dos níveis de HDL colesterol; diminuição dos níveis de FSH; diminuição dos níveis de TSH; diminuição dos níveis de T3 e T4; diminuição da concentração de albumina sérica; aumento de enzimas hepáticas (TGO e TGP); aumento do hematócrito; aumento dos níveis de LDL colesterol; aumento de triglicerídeos; aumento da concentração de glicose sérica. A identificação destas alterações pode alertar os médicos para sua provável causa, fato que pode mudar o diagnóstico e tratamento.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Dr. Geraldo Attilio De Carli, Faculdade de Farmácia-PUCRS, pelo incentivo constante e sua valiosa revisão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvaro, D. *et al.* Ultrastructural features of danazol-induced cholestasis: a case study. *Ultrastruct. Pathol.*, 20: 491-495, 1996.
2. Bausserman, L.L., Saritelli, A.L., Herbert, P.N. Effects of short-term stanozolol administration on serum lipoproteins in hepatic lipase deficiency. *Metabolism Clinical and Experimental*, 46: 992-6, 1997.
3. Bowers, L.D. Analytical advances in detection of performance – enhancing compounds. *Clin. Chem.*, 43: 1299-1304, 1997.
4. Bolch, O.H., Warren, J.C. Induction of premature menstruation with anabolic steroids. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 117: 121-125, 1973.
5. Bronson, F.H., Matherne, C.M. Exposure to anabolic androgenic steroids shortens life span of male mice. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 29: 615-19, 1997.
6. Bryden, A.A., Rothwell, P.J., O'Reilly, P.H. Anabolic steroid abuse and renal cell carcinoma. *Lancet*, 346: 1306-1307, 1995.
7. Chen, C.J., Yu, M.W., Liaw, Y.F. Epidemiological characteristics and risk factors of hepatocellular carcinoma. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 12: S294-308, 1997.

8. Cohen, C., Lawson, D., Derose, P.B. Sex and androgenic steroid receptor expression in hepatic adenomas. *Hum. Pathol.*, 29: 1428-1432, 1998.
9. De Menis, E., Tramontin, P., Conte, N. Danazol and multiple hepatic adenomas: Peculiar clinical findings in an acromegalic patient. *Horm. Metab. Res.*, 31: 476-477, 1999.
10. Dourakis, S.P., Tolis G. Sex hormonal preparations and the liver. *Eur. J. Contracept Reprod. Health Care*, 3: 7-16, 1998.
11. Fuchs, F.D., Wannmacher, L. *Farmacologia Clínica – Fundamentos da Terapêutica Racional*. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
12. Gilman, A.G. *Goodman & Gilman's - The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9.ed. Nova York: McGraw-Hill, 1996.
13. Grunberg, R., Banik, N. Krueger, J. Alanine aminotransferase (ALT, GPT): A reassessment of cutoff values in blood donors. *Infusionsther. Transf.*, 22: 145-151, 1995.
14. Haffner, S.M. Sex hormone-binding protein, hyperinsulinemia, insulin resistance and noninsulin-dependent diabetes. *Horm. Res.*, 45: 233-237, 1996.
15. Hecht, A. Anabolic steroids: pumping trouble. *FDA Consum.*, 9: 12-15, 1984.
16. Kalant, H., Roschlau, W.H.E. *Princípios da Farmacologia Médica*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.
17. Karch, S.B. *Drug Abuse Handbook*. Cleveland: CRC Press. LLC, 1998.
18. Karch, S.B. *The Pathology of Drug Abuse*. 2.ed. Cleveland: CRC Press. Inc., 1996.
19. Karila, T. *et al.* Growth hormone induced increase in serum IGFBP-3 level is reversed by anabolic steroids in substance abusing power athletes. *Clin. Endocrinol.*, 49: 459-463, 1998.
20. Kiraly, C.L. Androgenic steroid effects on the production of propionibacterial enzyme on skin. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 39: 259-265, 1988.
21. Koskinen, E. Katila, T. Effect of 19-norandrostendiolylaurate on serum testosterone concentration, libido, and closure of distal radial growth plate in colts. *Acta Vet. Scand.*, 38: 59-67, 1997.
22. Kotler, D.P. Management of nutritional alterations and issues concerning quality of life. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retroviro.*, 16, suppl 1: S1-2, 1997.
23. Lippi, G. *et al.* Effects of nandrolone decanoate (Decadurabolin®) on serum Lp(a), lipids and lipoproteins in women with postmenopausal osteoporosis. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 57: 507-511, 1997.
24. Lorimer, D.A., Hart, L.L. Cardiac dysfunction in athletes receiving anabolic steroids. *DICP Ann. Pharmacol. Ther.*, 1060-1061, 1990.
25. Lovejoy, J.C. *et al.* Oral anabolic steroid treatment, but not parenteral androgen treatment decreases abdominal fat in obese, older men. *Int. J. Obes.*, 19: 614-624, 1995.
26. Macleod, A.D. Sport psychiatry. *Aust. N.Z. J. Psychiatry*, 32: 860-6, 1998.
27. Malarkey, W.B. *et al.* Endocrine effects in female weight lifters who self-administer testosterone and anabolic steroids. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 165: 1385-1390, 1991.
28. Nagata, S. *et al.* Effects of anabolic steroid (19-nortestosterone) on the secretion of testicular hormones in the stallion. *J. Reprod. Fertil.*, 115: 373-379, 1999.
29. Nieminen, M.S. *et al.* Serious cardiovascular side effects of large doses of anabolic steroids in weight lifters. *Eur. Heart J.*, 17: 1576-1583, 1996.
30. Oga, S. *Fundamentos de Toxicologia*. São Paulo: Atheneu, 1996.
31. Padgett, D.A., Loria, R.M., Sheridan, J.F. Endocrine regulation of the immune response to influenza virus infection with a metabolite of DHEA – androstenediol. *J. Neuroimmunol.*, 78: 203-11, 1997.
32. Perry, P.J. *et al.* Detection of anabolic steroid administration: ratio of urinary testosterone to epitestosterone vs the ratio of urinary testosterone to luteinizing hormone. *Clin. Chem.*, 43: 731-735, 1997.
33. Saitoh, T. *et al.* Comparison of erythropoietic response to androgen in young and old senescence accelerated mice. *Mech. Ageing Dev.*, 109: 125-139, 1999.
34. Salvadora, A. *et al.* Correlating testosterone and fighting in male participants in judo contests. *Physiol. Behavior*, 68: 205-209, 1999.
35. Shimono, T. *et al.* Peliosis of the spleen: splenic rupture with intraperitoneal hemorrhage. *Abdom. Imaging*, 23: 201-202, 1998.
36. Stenman, U.H. *et al.* Immunoprotocols for detecting human chorionic gonadotropin: clinical aspects and doping control. *Clin. Chem.*, 43: 1293-1298, 1997.
37. Stocker, S. Overall teen drug use stays level, use of MDMA and steroids increases. *NIDA Notes*, 15: 5, 2000.
38. Stosor, V., Roenn, J.V. Therapeutic options for HIV-associated bodyweight loss. A risk-benefit analysis. *Drug Saf.* 17: 209-302, 1997.
39. Strawford, A. *et al.* Resistance exercise and supraphysiologic androgen therapy in eugonadal men with HIV-related weight loss: a randomized controlled trial. *JAMA*, 281: 1282-90, 1999.
40. Teruel, J.L. *et al.* Nandrolone decanoate reduces lipoprotein(a) concentrations in hemodialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.*, 30: 935-6, 1997.
41. Thompson, P.D. *et al.* Contrasting effects of testosterone and stanozolol on serum lipoprotein levels. *JAMA*, 261: 1165-1168, 1989.
42. Tirassa, P. *et al.* High-dose anabolic androgenic steroids modulate concentrations of nerve growth factor and expression of its low affinity receptor (p75-NGFr) in male rat brain. *J. Neurosci. Res.*, 47: 198-207, 1997.
43. Tucker, R. Abuse of anabolic-androgenic steroids by athletes and body builders: review. *Pharm. J.*, 259: 171-179, 1997.
44. Winkler, U.H. Effects on androgens on haemostasis. *Maturitas*, 24: 147-155, 1996.

Saiba o que é preciso para ter o seu

Título de Especialista em Análises Clínicas pela SBAC

As provas para a concessão do Título de Especialista em Análises Clínicas, outorgado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, são aplicadas durante a realização dos congressos realizados pela entidade.

Entre em contato através dos tel/fax (0xx21)264-4449 e (0xx21)204-0245 ou pelo e-mail: teac@sbac.org.br, e conheça as normas do regulamento para a concessão desse título.

Desempenho do teste ELISA-"conta" na rotina laboratorial para o diagnóstico da neurocisticercose humana*

Performance of ELISA-"bead" test for human cysticercosis diagnosis in laboratory routine

José Edson Paz da Silva¹; Adelaide José Vaz²; Maria de Lourdes Amud Ali dos Reis³;
Marinês Lavall Dias⁴ & João Baptista dos Reis Filho⁵

RESUMO - O teste ELISA-"conta" foi empregado em 1.141 amostras de líquido cefalorraquiano. Do total dessas amostras, 1.061 eram oriundos de pacientes com quadro clínico e/ou imagem tomográfica sugestivos de neurocisticercose e 80 amostras-controle, de pacientes com quadros clínico-neurológicos diversos, sendo afastada a possibilidade de possuírem neurocisticercose. Em 205 dessas amostras, foram aplicadas duas metodologias imunoenzimáticas. A primeira utilizando "contas" de poliestireno como suporte (ELISA-"conta") e a Segunda utilizando o antígeno adsorvido em microplaca (ELISA). Observou-se correlação de 94,6 % entre os dois testes. Os autores salientam que as vantagens do ELISA-"conta" como o menor custo do suporte, e a possibilidade de dispensar o uso de um aparelho leitor de microplacas, geralmente de alto custo, tornam este método atraente para laboratórios de pequeno porte.

PALAVRAS-CHAVE - Neurocisticercose; líquido cefalorraquiano; ELISA.

SUMMARY - The ELISA-"bead" test were produced in 1.141 samples of cerebrospinal fluid, where 1.061 patients showed clinical and or tomographic criteria suggesting neurocysticercosis and 80 samples of patients with various neurological clinical view, putting the possibility of having neurocysticercosis aside. In 205 from these samples, two immunenzymatic techniques were comparatively studied, one that uses polystyrene "beads" as support (ELISA - "bead"); another conventional uses microplates (ELISA); The correlation from these two tests were 94.6 %. Moreover this good correlation, the ELISA - "bead" test have shown statistically the same results from ELISA test, it's the most appropriate, because it shows others advantages such as the cost of bead and has no need of reader set for the microplates, that is expensive.

KEY WORDS - Neurocysticercosis; cerebrospinal fluid; ELISA.

INTRODUÇÃO

A cisticercose é uma patologia importante em Saúde Pública, endêmica em muitos países em desenvolvimento. No Brasil, ocorre predominantemente nos estados de Goiás, Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Santa Catarina^{20,13}. A prevalência atual e real da cisticercose no Brasil é de difícil avaliação.

O *Cysticercus cellulosae*, forma larvária da *Taenia solium*, é o responsável pela cisticercose humana e animal⁴.

A maior importância no estudo do complexo teníase-cisticercose decorre da alta frequência da localização do cisticercos no sistema nervoso e seus envoltórios, acarretando a neurocisticercose humana^{5,15}.

Não há sintomas que caracterizem a neurocisticer-

cose, pois grandes síndromes como convulsão, hipertensão intracraniana, quadros psíquicos, etc., podem ocorrer na vigência desta infecção^{4,6,16}. Sendo os sintomas clínicos muito variados, o diagnóstico deve sempre ser confirmado por exames radiológicos e/ou laboratoriais¹².

Dentre os testes imunológicos, o teste imunoenzimático (ELISA) tem sido cada vez mais empregado, por apresentar boa reprodutibilidade, alta sensibilidade, especificidade e permitir um grande número de testes simultaneamente^{1,5,10,11}.

Um fator limitante em nosso meio, para o uso rotineiro do teste ELISA que utiliza como suporte microplacas de titulação, é a exigência de um espectrofotômetro especial e de alto custo.

Para contornar esta limitação, pérolas de poliesti-

Recebido em 19/9/2000

Aprovado em 09/11/2000

*Trabalho realizado na Disciplina de Neurologia da UNIFESP, São Paulo, SP e no Depto. de Análises Clínicas e Toxicológicas da UFSM, Sta. Maria, RS.

¹Professor Titular e Chefe do DACT - UFSM

²Professora da Disciplina de Imunologia da Fac. de Farmácia da Universidade de São Paulo - USP

³Bióloga da Disciplina de Neurologia da UNIFESP - SP

⁴Farmacêutica-Bioquímica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da UFSM.

⁵Professor Adjunto da Disciplina de Neurologia da UNIFESP e Pesquisador do CNPq.

reno têm sido empregadas como suporte sólido em testes imunoenzimáticos para o diagnóstico de outras patologias, utilizando para a leitura final dos resultados, espectrofotômetros de uso rotineiro em laboratório clínico⁹.

Foi padronizada em nosso meio, uma técnica imunoenzimática - ELISA-"conta" para o diagnóstico imunológico da neurocisticercose, que utiliza um suporte de poliestireno ("contas" = miçangas de plástico) similar às pérolas e de fácil aquisição em nosso meio¹⁹.

Objetivo

O propósito deste estudo foi o de comparar a sensibilidade do teste ELISA-"conta" e ELISA em placa, em amostras de líquido cefalorraquiano (LCR) de pacientes com neurocisticercose e avaliar a eficácia do Teste ELISA-"conta" em amostras de LCR, na rotina laboratorial, em comparação com a reação de imunofluorescência indireta (RIFI).

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras

Foram estudadas 1.141 amostras de LCR de pacientes atendidos no Serviço de Neurologia da Escola Paulista de Medicina e no Hospital Universitário de Santa Maria, no período compreendido entre março de 1.993 e dezembro de 1.997. Este material biológico foi dividido em três grupos:

Grupo A: Constituído de 125 amostras de LCR de pacientes com clínica compatível e imagem tomográfica com cistos ou calcificações, sugestiva de neurocisticercose, com idade variando de 6 a 78 anos, sendo 80 do sexo feminino e 45 do sexo masculino.

Grupo B: Constituído de 80 amostras de LCR de pacientes com patologias diversas do sistema nervoso central, excluindo-se a possibilidade de neurocisticercose. A faixa etária deste grupo variou de 1 a 68 anos, sendo 41 do sexo feminino e 39 do sexo masculino. Este grupo controle que serviu para a avaliação da especificidade, estava subdividido em: B-1: 38 amostras com exame do LCR normal e B-2: 42 amostras com exame do LCR alterado.

Grupo C: Constituído de 936 amostras de LCR de pacientes com quadros clínicos diversos que se submeteram a exame de LCR, nas quais foram feitos os testes ELISA-"conta" e RIFI, para esclarecimento diagnóstico.

Antígeno

Extrato Antigênico Salino Total: O antígeno salino total foi utilizado nas reações de ELISA em microplaca¹¹ e ELISA-"conta"¹⁹ tendo sido preparado conforme metodologia descrita por Costa⁵. A obtenção da concentração de proteínas (1,15µg/ml) foi através do método de Bradford³.

Métodos

Para a avaliação da eficácia, foram confrontados os resultados obtidos com o teste ELISA-"conta" aplicados em parte das amostras, testadas em duplicata, com os resultados obtidos quando do emprego do teste ELISA convencional, tido como de referência (ELISA

em placa). Foram comparados também, os resultados obtidos na nossa rotina, quando do emprego de dois testes diferentes, ELISA-"conta" e RIFI, nas 1.141 amostras de LCR.

Teste imunoenzimático ELISA-"conta"

Este teste foi aplicado segundo o método padronizado por Silva *et al.*¹⁹. "Contas" de poliestireno, adquiridas em lojas de bijuterias com o nome de miçangas de plástico, foram sensibilizadas por adsorção física com antígeno salino total de *Cysticercus cellulosae*, diluído em solução tamponada carbonato-bicarbonato (Na²CO³ 0,02 M; NaHCO³ 0,03 M; pH 9,6) na concentração de 1µg de proteínas por unidade de suporte, durante 12 horas em temperatura ambiente, sob lenta rotação. Logo após, as "contas" foram lavadas 3 vezes com solução salina tamponada com fosfatos, PBS pH 7,2 (Fosfatos 0,01 M-NaCl 0,14 M) secas em estufa 37°C por 10 minutos, e armazenadas sob refrigeração a 4°C, em frascos hermeticamente fechados, sendo posteriormente utilizada uma "conta" para cada amostra ou controles positivo e negativo. Adicionou-se à cada tubo de ensaio, contendo uma "conta" já sensibilizada, 0,2 ml das amostras de LCR, diluídas 1:4, em PBS-T pH 7,4 (NaCl 0,13 M; fosfatos 0,02 M) contendo 0,05% de Tween-20 (Sigma, USA) adicionado de 0,2% de soroalbumina bovina (Difco, USA). Os tubos foram incubados 60 minutos a 37°C. Após 3 lavagens com PBS-T, de 5 minutos cada e aspirado com trompa de vácuo, adicionou-se 0,2ml de conjugado, anti-IgG humana-peroxidase (Biolab Diagnóstica S/A). Após um novo ciclo de incubação e lavagens foi adicionado a cada tubo 0,2 ml de solução cromógena (Orto-fenilenodiamino peróxido de hidrogênio - OPD). Nesta etapa, a incubação foi de 15 minutos, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. A interrupção da reação enzimática foi feita com a adição de 1,5ml de H²SO₄ 1 N. A reatividade foi avaliada visual e espectrofotometricamente em comprimento de onda de 492 nm (Espectrofotômetro Micronal mod. B 342 II). O limiar de reatividade (*cut off*) encontrado foi dado pela média aritmética das densidades ópticas acrescida de dois desvios padrões, para LCR normal e anormal de pacientes sem cisticercose. Dentro deste critério, os valores de sensibilidade e especificidade foram respectivamente de 96,3% e 91,2%¹⁹.

Teste imunoenzimático (ELISA) em microplacas

O teste imunoenzimático em microplaca de titulação foi realizado segundo a técnica de Pialarissi *et al.*¹¹, utilizado o conjugado anti-gamaglobulina "G" humana (anti-Ig G) marcada com a enzima peroxidase (Biolab, Brasil), na diluição 1:2.000.

Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) com partículas de cisticercos fixadas em lâminas adquiridas comercialmente (Lio Serum, Ribeirão Preto, SP-Brasil) seguindo a metodologia descrita por Machado *et al.*⁸

Análise estatística

Para se saber, estatisticamente, a possibilidade de se ter uma resposta positiva nas amostras de LCR do

FIGURA 1
 Frequência de positividade das 125 amostras de LCR nos testes ELISA-"conta", ELISA-placa (ELISA) e Reação de Imunofluorescência indireta (RIFI)

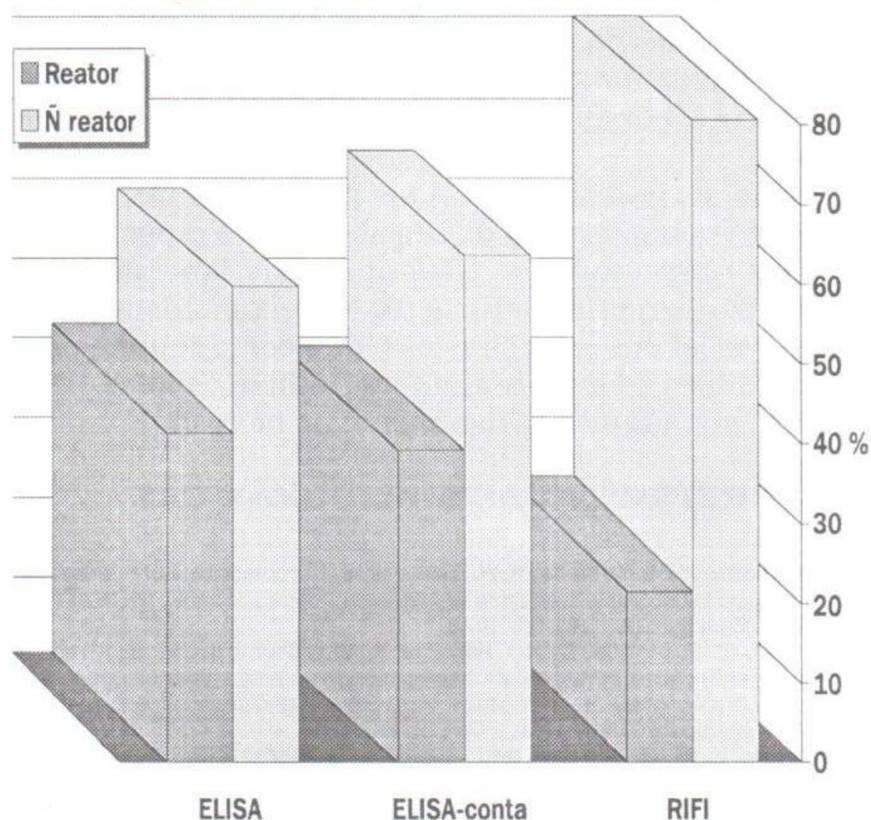


TABELA I
 Distribuição absoluta e relativa do número de indivíduos do grupo A, que tiveram resultados positivos e negativos para neurocisticercose, em função dos testes empregados na análise do LCR: Teste ELISA-"conta" (ELISA-"conta"); Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e Teste ELISA em placa (ELISA)

Testes	Resultados dos testes (n=125)			
	Reativo		Não Reativo	
	Absoluto	Relativo %	Absoluto	Relativo %
ELISA-"conta"	47	37,6	78	62,4
RIFI	26	20,8	99	79,2
ELISA	51	40,8	74	59,2

grupo "A" para os três testes estudados, ao nível de significância de 5%, foi aplicado o teste "Q" de Cochran, igualmente para se saber a possibilidade estatística de se ter uma resposta negativa no exame de LCR para cisticercose, para os três tipos de testes empregados no grupo "B". Anteriormente foi empregado o Teste Exato de Fischer para se saber se os resultados negativos encontrados na população B-1 eram estatisticamente iguais à frequência de resultados negativos obtidos na população B-2, e com isto analisar os resultados como se fosse um só grupo¹⁸.

Foram utilizados ainda, testes de proporções para se verificar a presença de diferenças estatisticamente significativas ($\alpha=0,05$) entre os resultados obtidos para a frequência de positividade dos três testes empregados no grupo A^{7,22}.

RESULTADOS

A distribuição relativa do número de indivíduos positivos e de negativos do grupo A, com clínica compatível e imagem tomográfica sugestiva de neurocisticercose,

TABELA II
 Estimativas pontuais e intervalares, obtidas para a frequência de positividade dos testes empregados, na população do grupo A (n=125)

Testes	Estimativas para a frequência de positividade (%) dos testes	
	Pontual %	Intervalar
ELISA-"conta"	37,6	29,63 a 47,03
RIFI	20,8	14,30 a 29,04
ELISA	40,8	32,85 a 50,49

TABELA III
 Estimativas pontuais e intervalares, obtidas para a especificidade dos testes aplicados nas amostras pertencentes ao grupo B (n=80)

Testes	Estimativas para a frequência de positividade (%) dos testes	
	Pontual %	Intervalar
ELISA-"conta"	92,5	86,87 a 96,69
RIFI	96,2	92,34 a 99,44
ELISA	92,5	86,87 a 96,69

TABELA IV
 Índices de Co-positividade (%), Co-negatividade e Concordância (%)

Testes	Co-positividade Grupo A (%)	Co-negatividade Grupo B (%)	Concordância (%)
ELISA x E-conta	47	37,6	78
RIFI x E-conta	26	20,8	99

TABELA V
 Frequência (%) de positivos e negativos quando do emprego de dois testes diferentes utilizados na rotina, em 936 amostras do grupo C

Testes	Resultados dos testes (n=125)			
	Reativo		Não Reativo	
	Absoluto	Relativo %	Absoluto	Relativo %
ELISA-"conta"	174	18,58	762	81,42
RIFI	120	12,82	816	87,18

em função dos resultados dos testes empregados (Fig. 1 e Tab. I), mostrou uma sensibilidade bastante semelhante para os testes imunoenzimáticos ELISA-"conta" (37,6%) e ELISA em placa (40,8%). Mostra também a supremacia destas metodologias quando comparadas com a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI).

A simples inspeção visual das estimativas pontuais e intervalares (Tab. I e II) indica que o teste mais sensível foi o ELISA em placa, cuja positividade calculada foi 40,8%. Testando-se este valor (testes de proporções) contra os correspondentes obtidos nos demais testes constatou-se não haver diferença estatisticamente significativa na sensibilidade do teste ELISA-"conta" (estatística do teste = 0,77; $\alpha=0,05$). Porém, constatou-se diferença significativa entre as sensibilidades dos testes de imunofluorescência (RIFI) e ELISA-"conta".

Através do Teste Exato de Fisher, ao nível de significância de 5%, verificou-se que não existe diferença estatisticamente significativa entre os resultados dos subgrupos B-1 e B-2, isto é, a frequência de resultados negativos encontrados na população do subgrupo B-1 é, estatisticamente igual à frequência de resultados nega-

tivos obtidos na população do subgrupo B-2. A simples inspeção visual dos resultados apresentados quando essas duas populações foram agrupadas (Tab. III), revela a boa correlação dos três testes quanto à especificidade. Observou-se que a possibilidade estatística, ao nível de significância de 5% de se ter uma resposta negativa no exame do LCR para cisticercose, para os três tipos de testes empregados, é a mesma.

Pelos índices de co-positividade (%), co-negatividade e concordância (%) (Tab. IV), constata-se não haver diferença significativa entre os testes ELISA em placa e ELISA-"conta". No entanto, a estatística do teste foi significativa quando se comparou esses dois testes com a RIFI ($\alpha=0,05$). Essas constatações também foram obtidas empregando-se o mesmo procedimento utilizado quando se testou a sensibilidade e a especificidade.

A frequência de positividade do teste ELISA-"conta", quase 50% maior quando comparada à obtida pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) nas amostras do Grupo C (Tab.6), reforça a utilidade deste teste.

DISCUSSÃO

A frequência de positividade apresentou-se inferior à normalmente encontrada na literatura para essas três metodologias^{1, 5, 10, 11, 22, 17, 19}, possivelmente em virtude das amostras do grupo A serem oriundas de pacientes em diversos estágios evolutivos da doença, inclusive alguns com seqüela neurológica apenas evidenciada pela tomografia sugestiva de neurocisticercose. Frequentemente ocorre, que o padrão "ouro" utilizado por muitos pesquisadores, para avaliar o teste ELISA, é constituído de amostras de LCR já com reação de fixação de complemento ou reação de imunofluorescência indireta positivas para cisticercose. Sabe-se que 30% dos pacientes com neurocisticercose¹⁵ possuem reações de fixação de complemento e/ou imunofluorescência indireta negativas. Nesta pesquisa, estes pacientes não foram excluídos, visto que o critério para inclusão no grupo A, foi de diagnóstico tomográfico.

A frequência de positividade do teste ELISA-"conta", quase 50% maior quando comparada à obtida pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) nas amostras do Grupo C (Tab. V), reforça a utilidade deste teste, principalmente, quando se sabe da boa sensibilidade do RIFI, que varia de 80,7% a 96%^{2, 14}.

Esses índices totalmente novos em nosso meio, comprovam a superioridade desta metodologia, voltada para os laboratórios que não possuem aparelhos leitores de placa, como os necessários para o teste ELISA convencional. Embora esses testes sejam bastante sensíveis, as amostras do Grupo C, por serem oriundas de pacientes com quadro clínico e/ou tomográfico apenas sugestivo de neurocisticercose, bem como, de pacientes sem um quadro clínico, definido para o diagnóstico de uma outra patologia neurológica, promoveram uma baixa frequência na positividade.

CONCLUSÕES

1- A comparação do teste ELISA-"conta" e ELISA em placa mostrou que não há diferença significativa entre os métodos, tanto para sensibilidade quanto para especificidade.

2- Não existe diferença estatisticamente significativa entre os três testes ensaiados, em relação à especificidade.

3- O teste ELISA-"conta" mostrou ser estatisticamente superior à Reação de Imunofluorescência Indireta, reação tida como um bom aliado no diagnóstico da neurocisticercose, por apresentar boa sensibilidade e especificidade.

4- Sendo os testes ELISA em placa e ELISA-"conta" iguais do ponto de vista de sensibilidade e especificidade, este último torna-se viável para um laboratório de menor porte, quando utiliza um espectrofotômetro habitual nos laboratórios clínicos e que como suporte para a sensibilização com o antígeno, utilize "contas" que possam ser adquiridas facilmente no mercado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arambulo, III, P. V.; Walls, K. W.; Bullock, S. Serodiagnosis of human cysticercosis by microplate enzyme-linked-immunospecific assay (ELISA). *Acta trop.*, (Basel), v.35, p.63-67, 1978.
2. Bassi, G. E.; Ishiki, D. K.; Ferreira, A. W.; Camargo, M. E. A reação imunoenzimática para cisticercose no líquido cefalorraquiano - considerações sobre o limiar de reatividade. *Rev. Bras. Pat. Clin.*, v.27, n.2, p.49-52, 1991. Medicina, Universidade de São Paulo.
3. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analyt. Biochem.*, v.72, p.248-52, 1976.
4. Camargo-Lima, J. G. - Cisticercose encefálica: aspectos clínicos. São Paulo, 1966. (Tese de Concurso à Docência Livre de Clínica Médica na Escola Paulista de Medicina).
5. Costa, J. M. Teste Imunoenzimático (ELISA) no diagnóstico da neurocisticercose. São Paulo, 1983 (Tese de doutoramento-Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo).
6. Couto, B. Aspectos clínicos da neurocisticercose. *Informativo Cisticercose*, v.2, n. 2, p.1-3, 1984.
7. Galen, R. S.; Gambino, S. R. *Beyond normality: the predictive value and efficiency of medical diagnosis*, New York, John Wiley ed., 235 p., 1975.
8. Machado, A. J.; Camargo, N. E.; Hoshino, S. Reação de imunofluorescência para cisticercose com partículas de *Cysticercus cellulosae* fixadas à lâmina de microscopia. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v.7, p. 181-183, 1973.
9. McMillan, R.; Tani, P.; Millard, F.; Berchtold, P.; Renshaw, L.; Woods Jr, V. L. Platelet-associated and plasma anti-glycoprotein autoantibodies in chronic ITP. *Blood*, v.70, n.4, p.1040-45, 1987.
10. Pammenter, M. D.; Rossouw, E. J.; Epstein, S. R. Diagnosis of neurocysticercosis by enzyme-linked immunosorbent assay. *Samt Deel*, V.71, P. 512-14, 1987.
11. Pialarissi, C. S.; Vaz, A. J.; Souza, A. M. Estudo comparativo de testes sorológicos no diagnóstico imunológico da neurocisticercose. *Rev. Inst. Med. trop.* São Paulo, v.29, p.367-73, 1987.
12. Pupo, P. P.; Reis, J. B.; Silva, C. P. Sobre a cisticercose encefálica. Estudo clínico, anatomopatológico, radiológico e do líquido cefalorraquiano. *Arch. Assist. Psicopat.*, São Paulo, v.10/11, p.3-123, 1945/1946.
13. Takayanagui, O. M. Neurocisticercose: I. Evolução clínico-laboratorial de 151 casos. *Arq. Neuro-Psiquiat.*, (S.Paulo), v.48, n. 1, p. 1-10, 1990.
14. Reis, J. B.; Bei, A. A reação de fixação de complemento para o diagnóstico da sífilis e da cisticercose no líquido cefalorraquiano pela técnica de Wadsworth-Maltaner-Maltaner. *Rev. Paul. Med.* v. 53, p. 439, 1958.
15. Reis, J. B.; Bei, A.; Reis-Filho, J. B. Líquido cefalorraquiano na cisticercose encefálica. *Arq. Neuro-Psiquiat.*, São Paulo, v. 37, n.2, p. 113-26, 1979.
16. Reis-Filho, J. B.; Reis, J. B.; Bei, A., A reação de fixação de complemento no diagnóstico da neurocisticercose. *Neurobiologia*, Recife, v.48, p.227-32, 1985.
17. Rosas, N.; Sotelo, J.; Nieto, D. ELISA in the diagnosis of neurocysticercosis. *Arch Neurol.*, v.43, 1986.
18. Siegel, S. *Estatística não paramétrica para as ciências do comportamento*. Rio de Janeiro, McGraw-Hill, 1975. 350 p.
19. Silva, J. E. P.; Vaz, A. J.; Reis-filho, J. B. Padronização do ELISA-"conta" para cisticercose no líquido cefalorraquiano. *Neurobiol.* (Recife), Vol. 57(3), p. 77-88, 1994.
20. Spina-França, A. Epidemiologia da neurocisticercose. *Informativo Neurocisticercose*, Rio de Janeiro, v.2, n.2, p.1-2, 1984.
21. Vaz, A. J.; Ferreira, A. W. Imunodiagnóstico da neurocisticercose: teste imunoenzimático com antígenos quimicamente ligados a suportes para pesquisa de anticorpos em soro e líquido cefalorraquiano. *Rev. inst. Med. trop.*, São Paulo, v.30, n.1, p.1-10, 1988.
22. Woolson, R. F. *Statistical methods for the analysis of biomedical data*. N. York, USA, John Wiley & Sons, Inc., 1987.

Endereço para correspondência

Prof. Dr José Edson Paz da Silva
Depto. de Análises Clínicas e Toxicológicas - Centro de Ciências da Saúde
Univ. Federal de Santa Maria - Campus - Camobi Santa Maria - RS - 97119-900

Métodos laboratoriais disponíveis para o diagnóstico da Filariose Linfática

Available laboratorial diagnostic methods of the Lymphatic Filariasis

Abraham Rocha ^{1,2}

RESUMO - O presente trabalho tem como objetivo revisar os métodos laboratoriais disponíveis para se diagnosticar a filariose linfática bancroftiana. Doença transmitida pelo vetor *Culex quinquefasciatus*, e que é encontrada no Brasil, na Região Metropolitana de Recife - PE, Maceió - AL, e Belém - PA. Apesar de existir uma variedade de testes utilizando a pesquisa do parasito, anticorpo, antígeno e DNA, na rotina diagnóstica, um cuidado deve ser tomado pelo profissional de saúde na interpretação dos resultados, quer para diagnóstico ou descarte de infecção filarial, quer principalmente para atribuir ou não à filariose, um quadro de adenopatia, linfedema ou hidrocele de que o paciente seja portador.

PALAVRAS-CHAVE - Wuchereria, antígeno, filariose bancroftiana, parasitológico e imunodiagnóstico.

ABSTRACT - The objective of this present paper is to review the performance of the laboratorial diagnostic methods available for diagnosis of bancroftian filariasis, a vector borne disease which occurs in Brazil in Greater Recife (PE), Maceió (AL) and Belém (PA). Tests are now available which detect circulating filarial antigens, DNA and antifilarial antibody. For routine diagnosis, attention should be paid by the professional of health to be aware of the limitations of each test. Accurate interpretation of test results requires a knowledge of the positive and negative predictive value of each test. No tests currently exist that can confirm, in an individual patient, the filarial etiology of morbidity that is often associated with bancroftian filariasis, such as adenopathy, hydrocele, lymphedema, or chyluria. Rather, the currently available serologic tests indicate only whether the patient is currently infected or not with the parasite.

KEY-WORDS - Wuchereria, antigen, bancroftian filariasis, parasitologic and immunodiagnosis.

INTRODUÇÃO

A filariose linfática causada pela *Brugia malayi*, *B. timori* e *Wuchereria bancrofti* está largamente distribuída no globo terrestre, podendo ser encontrada em 73 países. Cerca de 1.1 bilhões de pessoas (20% da população do globo terrestre) vivem em áreas endêmicas sob o risco de adquirir infecção filarial. Estima-se que no mínimo 120 milhões de pessoas estão infectadas^{43,62}.

O parasita filarial, *W. bancrofti*, está presente na maioria das regiões tropicais e subtropicais do mundo. Aproximadamente 107 milhões de pessoas estão infectadas com este helminto⁶². Nas Américas, é uma importante causa de morbidade aguda e crônica atingindo pessoas de todas as idades e de ambos os sexos. O Haiti tem a mais alta prevalência, e, no Brasil, o Grande Recife, PE é uma área de importante transmissibilidade, seguindo-se Maceió, AL. Em Belém, PA, a transmissão parece estar controlada^{4,61}.

A bancroftose é uma doença exclusiva do homem. É transmitida pelos principais gêneros de mosquitos

vetores que são: *Mansonia*, *Aedes*, *Anopheles* e *Culex*, sendo, o *Culex quinquefasciatus*, o vetor responsável pela transmissão na maioria das regiões do mundo. No Brasil, este mosquito é vulgarmente conhecido como pernilongo, muriçoca ou carapanã⁴. A transmissão ocorre devido à presença de formas embrionadas, chamadas de microfírias, no sangue humano. Mosquitos fêmeas dos gêneros acima citados, no momento da hematofagia sugam juntamente com o sangue, as microfírias que se desenvolvem no seu interior, no período de 14 a 21 dias em larva infectante ou L3. Na oportunidade de uma nova hematofagia as L3, que apresentam movimentos ativos, são depositadas na pele do indivíduo sadio e pela solução de continuidade acarretada pela picada do mosquito, penetram no organismo. Estas larvas possuem uma predileção pelo sistema linfático e linfonodos, até o momento não esclarecida, sofrem então duas mudas, tornando-se vermes adultos, machos e fêmeas, que após o acasalamento, produzem microfírias por mais de dez anos, ou até a sua morte natural ou pela ação da droga dietilcarbamazina (DEC)^{10,12,37}.

Recebido em 20/7/2000

Aprovado em 18/8/2000

¹Pesquisador adjunto do Departamento de Parasitologia do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães - FIOCRUZ

²Coordenador do Serviço Diagnóstico em Filariose bancroftiana.

A manifestação da doença é complexa, dependendo, dentre outros fatores, do estágio do parasito e da resposta imunológica do indivíduo, acarretando as mais diversas formas clínicas⁴². A hematúria e a eosinofilia pulmonar tropical ou EPT são causadas pela microfilária, e as demais formas agudas (linfangites e linfadenite) e as crônicas (hidrocele, quilocèle, linfoscroto, quilúria e linfedema) são causadas pelo estágio adulto do parasita, o qual habita o sistema linfático, principalmente os vasos de transporte¹².

Pesquisa do parasito

Tradicionalmente, o diagnóstico laboratorial da infecção filarial está baseado na detecção das microfilárias no sangue periférico ou de formas adultas em biópsias de linfonodos, evidenciando vermes, vivos, degenerados, calcificados ou aparentemente intactos^{19,23}. Contudo, a biópsia não é um método de rotina para diagnóstico da bancroftose e sim de importância no diagnóstico diferencial com outras patologias do sistema linfático. O encontro do parasito adulto seria ao acaso. Assim, por muitos anos, o único diagnóstico utilizado de rotina, comprobatório da infecção filarial foi o encontro de microfilárias no sangue periférico ou nos líquidos biológicos (urina, sangue menstrual, líquidos hidrocelíco, quilocélíco ou sinovial) do hospedeiro.

Recentemente, com a utilização da ultra-sonografia, de forma pioneira em Recife-PE, foi possível a visualização de vermes adultos vivos em vasos linfáticos de bolsa escrotal^{1,38} e nas mulheres a nível de mama¹⁴. Assim, a ultra-sonografia esta sendo considerada como uma nova "ferramenta" parasitológica no diagnóstico da bancroftose (Rocha, não publicado).

Dois métodos de pesquisas de microfilárias em sangue periférico e venoso são utilizados na investigação da infecção filarial:

- 1) gota espessa (GE) não mensurada (aproximadamente 45µl) ou mensurada (20-60µl) utilizando-se sangue capilar. A GE é o método de escolha para inquéritos hemoscópicos e triagem individual;
- 2) testes de concentração de sangue venoso, tais como:
 - a) *técnica de Knott*²⁴, geralmente utiliza-se entre 1 até 5ml, aumentado assim a sensibilidade do diagnóstico. Para os laboratórios de rotina diagnóstica esta técnica pode ser utilizada para analisar o sangue dos indivíduos com baixas parasitemias, nos momentos pré e pós tratamento específico. Por ser uma técnica laboriosa a mesma foi substituída pelos laboratórios de pesquisas pela técnica de filtração;
 - b) a *técnica de filtração em membrana de poliacarbonato*⁸, é considerada o *gold standard* para a pesquisa deste estágio do parasita. Pode-se utilizar até 16 ml, sendo mais utilizada na pesquisa científica¹³. Os testes parasitológicos, com exceção do ultra-som, necessitam ser realizados de acordo com a periodicidade das microfilárias, que na maioria das áreas endêmicas, é de periodicidade noturna, com picos de parasitemia entre as 23:00 e 01:00h¹⁵.

Desta forma, o diagnóstico definitivo da infecção filarial, estaria sujeito à demonstração do parasita no sangue (periférico ou venoso), nos tecidos (biópsia), líquidos biológicos (urina, líquidos quilocélíco, hidrocelíco ou linfa) ou *in vivo* (ultra-sonografia). Esta última metodologia, apesar da alta sensibilidade e especificidade, até o momento, não está sendo utilizada de rotina como ferramenta diagnóstica e confirmatória da infecção ou como critério de cura após o tratamento específico nos diversos serviços de saúde pública nas áreas endêmicas do mundo.

Por outro lado, inquéritos epidemiológicos utilizando sangue periférico (capilar ou venoso), em algumas regiões do mundo é muito difícil ou até mesmo impossíveis devido à violência ou onde crenças religiosas existem, como no continente africano, o que dificulta em muito qualquer trabalho noturno.

O diagnóstico clínico e parasitológico direto da doença, muitas vezes não é fácil, o que faz do soro diagnóstico ou a pesquisa de DNA circulante do parasito uma opção necessária. Ao mesmo tempo, um imenso desafio para os imunoparasitologistas, apresenta-se por não se dispor de um modelo experimental, o qual possibilitaria o conhecimento da relação clínica-imunológica do parasita-hospedeiro, a exemplo do que se tem na esquistosomose mansônica ou na malária, particularmente em relação a testes diagnósticos^{21,33}.

Desta forma, um teste que possa ser realizado a qualquer hora do dia é extremamente atrativo para os sistemas de saúde das regiões endêmicas, tanto a nível individual quanto da própria comunidade.

I. Pesquisa de anticorpo

Os testes preconizados para a pesquisa de anticorpos na doença filarial, até o momento, utilizam extratos brutos dos parasitos homólogos (por exemplo, a imunofluorescência [IMF] para *W. bancrofti*) ou heterólogos (imunoenzima ensaios [ELISA] com vermes adultos de *B. malayi*). Isso provoca geralmente reações cruzadas com outras infecções, fazendo com que a especificidade do teste seja prejudicada⁴⁵.

Por várias décadas, foi preconizado no Brasil, principalmente em Recife, um teste diagnóstico de infecção e/ou doença filarial, utilizando-se a IMF, no qual usava-se como antígeno a própria microfilária de *W. bancrofti*. Dreyer *et al.* em 1991⁹ realizaram um estudo duplo cego utilizando os soros de pacientes com as diversas formas de apresentação clínica/parasitológica da doença. Os autores confirmaram a alta sensibilidade do teste, já descrita por Santos *et al.* em 1976⁴⁹. Contudo, verificaram uma baixíssima especificidade, e sugerem que o mesmo não tem os atributos mínimos requeridos como instrumento diagnóstico para a bancroftose (quer infecção, quer doença filarial).

Um dos determinantes mais bem caracterizados, responsáveis pelas reações cruzadas em imunoparasitologia, é a molécula de fosforilcolina que, por sua vez, é imunodominante na maioria dos organismos que a possuem³¹. Na tentativa de evitar o reconhecimento da molécula da fosforilcolina em testes sorológicos,

Ottesen *et al.*, 1985⁴¹ demonstraram que indivíduos portadores das diversas formas clínicas de filariose - principalmente aqueles pertencentes ao grupo de eosinofilia pulmonar tropical, apresentam, no ELISA, altos títulos do isotipo IgG4 frente ao extrato solúvel bruto de *B. malayi* (BmA). Assim, durante algum tempo houve uma aceitação internacional, de que uma resposta do tipo IgG4 frente ao extrato de BmA seria indicativa de infecção ativa (mesmo na ausência de evidências clínicas) ou de doença crônica ou aguda (mesmo na ausência de evidências parasitológicas). O teste parecia ter uma alta especificidade e passou a ser utilizado como diagnóstico de doença filarial. No entanto, Rocha, 1995⁴⁵ demonstrou a baixa especificidade desse teste, ao estudar os soros de pacientes com uma síndrome pulmonar semelhante à EPT filarial (chamada pelo autor de EPT-like), muito comum em áreas endêmicas de filariose, mas causada por outros helmintos que não a *W. bancrofti*⁴⁶.

A detecção de anticorpos antifilária anti-*Brugia* IgG total ou do isotipo IgG4 no soro dos indivíduos que visitam e particularmente aqueles residentes temporários em áreas endêmicas de bancroftose, parece ter algum valor diagnóstico⁴². Entretanto, a detecção de anticorpos da subclasse IgG4 no soro desses indivíduos parece ser mais específica do que a IgG total, apresentando-se em altos títulos no soro dos indivíduos com infecção ativa com *W. bancrofti* (ou seja, naqueles indivíduos positivos para antígeno circulante)^{17,25,26,27,29,41}, declinando os seus títulos após o tratamento com a DEC²⁵, porém, no tocante a especificidade da IgG4 antifilária precisa ser melhor estudada, não sendo indicada como ferramenta diagnóstica a ser utilizada de rotina nas áreas endêmicas^{7,45,46}.

As técnicas sorológicas que utilizam a detecção de anticorpos, geralmente não diferenciam os indivíduos com infecção ativa daqueles com infecção passada ou os indivíduos que já tenham sido expostos às larvas infectantes de forma esporádica ou mesmo contínua, mesmo que não se tornem infectados. A utilização de antígenos purificados certamente elevaria o grau de segurança dos testes que buscam identificar anticorpos específicos contra a *W. bancrofti*, a exemplo do que ocorreu com o diagnóstico da infecção pela *Onchocerca volvulus*. Hoje, já é possível, detectar inclusive, os períodos pré-patente e patente, com o uso de um coquetel composto por três antígenos recombinantes (OV-7, OV-11 e OV-16)⁴⁴. Mesmo apresentando uma especificidade e sensibilidade de cerca de 95%, o teste com o coquetel de antígenos possui a limitação supracitada de não ser capaz de distinguir infecção ativa de infecção passada. Somado a isso, os anticorpos detectados por esse coquetel permanecem elevados por vários anos, não sendo assim recomendada sua utilização na monitorização da cura pós-quimioterapia antifilarial⁴³.

II. Pesquisa de antígeno circulante

Devido à limitação diagnóstica prática dos testes que utilizam a pesquisa de anticorpo na bancroftose, o Programa de Pesquisa em Doenças Tropicais da Or-

ganização Mundial da Saúde (TDR/WHO) enfatizou a necessidade de serem gerados testes sorológicos capazes de detectar antígenos circulantes nos períodos pré-patente, patente, de cura e de reinfeção na filariose bancroftiana⁶¹. Vários pesquisadores demonstraram no passado remoto que tais testes poderiam ser factíveis^{48,63}.

Seguindo as orientações acima citadas dois anticorpos monoclonais (AcMo) foram obtidos, sendo utilizados na técnica imunoenzimática (ELISA), denominados de testes do Og4C3 e AD12. O primeiro AcMo, de acordo com alguns investigadores^{34,51} reconhece somente produtos excretórios e secretórios de vermes adultos de *W. bancrofti*⁶ e o segundo AcMo reconhece um antígeno de 200 kilo Daltons (kD) que segundo alguns autores é originário de vermes adultos^{17,18,53}. Apesar das observações referentes aos dois AcMo os antígenos que ambos detectam podem ser compartilhados tanto pelos vermes adultos com pelas Mf^{30,47}. No entanto, destacamos a grande vantagem de ambos os testes em detectar antígeno circulante de *W. bancrofti* a qualquer hora, tanto diurno com noturno, sendo constante a concentração de antígeno no soro ao longo do dia^{30, 47, 56, 57}.

O Og4C3 é um AcMo da classe das imunoglobulinas IgM obtido contra a *Onchocerca gibsoni* (filária bovina). Após os estudos iniciais, através da demonstração que o AcMo reconhecia no soro de pacientes infectados, antígenos de *W. bancrofti*, o mesmo tem sido empregado como específico na detecção de antígeno circulante de vermes adultos. O teste já se encontra comercialmente disponível (Trop-Ag *W. bancrofti*, produzido pela JCU Tropical Biotechnology Pty. Ltd., Townsville, Queensland, Austrália) e já está sendo usado de forma rotineira por vários laboratórios da Região Metropolitana do Recife. Estudado por vários autores^{6,16,28,34,51}, esse teste apresenta cerca de 100% de sensibilidade em detectar os indivíduos microfilarêmicos com densidade maior que 50mf/ml^{6,30}, embora tenha demonstrado uma sensibilidade variando de 72 a 75%, nos indivíduos com microfilaremia menor que 30 mf/ml, decaindo esta sensibilidade naqueles indivíduos que apresentam parasitemia menor que 1mf/ml⁴⁷. Estudos desenvolvidos em Recife por Rocha *et al.*, (1996)⁴⁷ mostraram que esse AcMo possui 100% de sensibilidade quando o indivíduo apresenta uma densidade igual ou maior a uma microfilaria por ml de sangue. Por outro lado, o teste reconhece somente cerca de 70% dos indivíduos amicrofilarêmicos, porém, portadores de vermes adultos vivos. A definição desse grupo de pacientes, é de extrema importância, na validação de testes imunodiagnósticos e para a pesquisa em geral. A identificação de pacientes amicrofilarêmicos, porém portadores de vermes adultos vivos, foi possível graças ao uso da ultra-sonografia e o teste do Og4C3 no estudo da bancroftose^{1,10,11,28,38,39,47}. Embora a especificidade do Og4C3 seja muito alta, ela não é de 100%⁴⁷. É importante salientar que não existe diferença de sensibilidade entre as amostras coletadas durante o dia ou a noite³⁰, contornado-se assim a dificuldade encontrada na pesquisa da microfilaria circu-

lante em sangue coletado no período da noite, o qual é mundialmente conhecido e representa um teste clássico para o diagnóstico da infecção filarial que é a gota espessa.

O teste utilizando o AcMo AD12⁵³, ainda não disponível comercialmente para o teste ELISA, foi alvo de investigação pelos pesquisadores. Quando comparado ao teste do Og4C3, parece não mostrar diferenças significativas na detecção dos indivíduos microfilarêmicos. No entanto, Mouliia-Pelat *et al.* 1995³⁵ demonstraram uma maior redução no antígeno circulante AD12 do que com o Og4C3, após a intervenção de controle da transmissibilidade através do tratamento em massa na Polinésia Francesa. Os mesmos atribuem essas diferenças possivelmente à sensibilidade dos testes na técnica do ELISA ou até ao fato de que os dois AcMo pudessem reconhecer diferentes determinantes antigênicos ou antígenos da *Wuchereria*.

Recentemente a *Diagnostic Immunochromatographic Diagnostic Tests (ICT)* lançou comercialmente o teste rápido em cartões com anticorpo AD12, utilizando-se soro, plasma ou mesmo sangue total (capilar)⁵⁷, cujo resultado pode ser obtido em até 15 minutos. Pela simplicidade, esse teste parece bastante promissor para ser utilizado em larga escala em áreas endêmicas, tendo a vantagem também de poder ser empregado a qualquer hora do dia. Como citado acima, o anticorpo AD12 parece ser específico para antígenos do estágio de verme adulto do parasito, devendo assim traduzir-se em um teste positivo nos indivíduos infectados, quer micro ou amicrofilarêmicos. Esse fato, se confirmado, limitará o seu uso em áreas onde o tratamento em massa interrompeu com sucesso a transmissibilidade. Desta forma, seria bastante atrativo que trabalhos fossem direcionados no sentido de validar os dois AcMo para serem usados na monitorização dos programas de controle da transmissibilidade, quando forem empregadas as drogas atualmente disponíveis: somente microfilaricida^{22,35} ou parcialmente macrofilaricida^{10,40}.

Os testes que detectam antígeno circulante de *W. bancrofti* parecem ser mais sensíveis do que a detecção de Mf pela técnica de filtração em membranas, *gold test* utilizando 1ml de sangue venoso^{18,47}. Assim, a pesquisa de antígeno parece ser bastante promissora para ser utilizada como teste diagnóstico de rotina. O teste, uma vez positivo, significa que o indivíduo está com a bancroftose, contudo o teste negativo não descarta a infecção. No entanto, ressalta-se que, os resultados positivos, quando encontrados em uma área dita extinta de filariose, após investigação parasitológica negativa, podem ser considerados como falsos positivos. Por outro lado, até o momento não se têm dados convincentes com relação ao comportamento (negativação) do antígeno circulante por não se saber qual a sua cinética após a morte dos vermes adultos, ou pós tratamento com a DEC ou ivermectina^{17,22,32,52,54,55}. A pesquisa de antígeno circulante pode não ser uma ferramenta esclarecedora como diagnóstico no seguimento pós tratamento quer a nível individual quer a nível de comunidade (tratamento em massa). Sendo assim, estudos precisam ser direcionados no sentido de esclarecer qual o tempo médio do antígeno circulan-

te, bem como se a morte dos vermes adultos, monitorizados pela ultra-sonografia, acarretam o declínio dos níveis sorológicos do antígeno circulante, assegurando desta forma a cura da infecção.

III. Pesquisa de DNA

A utilização da técnica da reação da polimerase em cadeia (PCR) foi originalmente empregada na filariose bancroftiana para avaliar os programas de controle através do índice de infecção em mosquitos. Vários autores tem demonstrado que a técnica de PCR possibilita o encontro de uma única larva infectante (L3), quando experimentalmente colocada em um pool de mosquitos. De acordo com Chanteau *et al.* 1994⁵, a PCR permite detectar o DNA de uma única L3 de *W. bancrofti* em um "pool" de 50 mosquitos. Mais recentemente, Nicolas *et al.* 1996³⁶ foram capazes de detectar uma única L3 em um "pool" de 100 mosquitos. Por ser uma técnica que possibilita uma ampla aplicação no campo do diagnóstico das doenças infecto parasitárias, muitos pesquisadores estão trabalhando com experimentos em bancroftose para aprimorar a técnica de PCR para detecção de DNA livre de *W. bancrofti* nos diversos líquidos biológicos humanos (sangue total, plasma, urina e secreção pulmonar)^{2,20,50,58,59,64}. Trabalho desenvolvido por Williams *et al.* (1996)⁶⁰ demonstrou que a sensibilidade do teste é de 100% quando a amostra sanguínea examinada contém um número igual ou superior a oito Mf/ml. Zhong *et al.* (1996)⁶⁴ conseguiram detectar um pouco menos de um picograma (~1% do DNA de uma microfilária) de DNA em sangue total ou soro humano, experimentalmente, sugerindo que a técnica de PCR possa ser utilizada para detectar DNA livre nos diversos líquidos biológicos.

De forma resumida o Quadro 1 nos mostra as vantagens e desvantagens de cada método acima discutido.

CONCLUSÃO

Utilizando-se os testes para a pesquisa de anticorpos, a soropositividade, pode ocorrer em muitos indivíduos não infectados vivendo nas áreas endêmicas, devido às reações cruzadas. A soropositividade, usando-se o AcMo Og4C3, oferece uma boa sensibilidade para a infecção bancroftiana, contudo sua especificidade ainda precisa ser mais bem avaliada em indivíduos que compartilham de outras infecções parasitárias. Assim, deverá ser sempre considerado pelo médico assistente o valor preditivo positivo do teste em áreas de baixa prevalência da doença filarial¹⁶, para uma melhor interpretação do teste. É importante salientar que o resultado negativo na pesquisa de antígeno, tanto pelo AD12 quanto pelo Og4C3, não descarta a infecção filarial. Por outro lado, os testes disponíveis não parecem ser marcadores de morbidade filarial nem descartam a etiologia bancroftiana da doença apresentada pelo paciente, como hidrocele, linfedema ou quilúria, por exemplo. Assim, estudos devem ser direcionados no sentido de avaliar também o comportamento do antígeno circulante pós tratamento com DEC ou ivermectina, caracterizando ou não a cura do

QUADRO 1

Testes disponíveis para detectar os indivíduos infectados ou não com *Wuchereria bancrofti*

Teste	Vantagens	Desvantagens
- Pesquisa de Mf ¹ pela gota espessa	- Baixo custo - Alta especificidade - Fácil processamento laboratorial	- Baixa sensibilidade - Coleta noturna
- Pesquisa de Mf pela técnicas de concentração a) Knott b) Filtração	a) Baixo custo, alta especificidade, boa sensibilidade. b) Alta sensibilidade e especificidade	a) Laboriosa b) Alto custo a e b) Coleta venosa no período noturno
- Subtipos de anticorpos IgG específicos para <i>W.b.</i> ²	- Alta sensibilidade	- Baixa especificidade - Não estão comercialmente disponíveis
- Detecção de antígeno circulante	- Boa sensibilidade - Boa especificidade - Rápido - Conveniente (não necessita coleta noturna)	- Não apresenta 100% de sensibilidade nem especificidade - Precisa ser melhor estudado pós seguimento do tratamento com DEC ⁴
- Pesquisa do DNA de <i>W.b.</i>	- Boa sensibilidade - Alta especificidade	- Alto custo - Consome muito tempo - Necessita de pessoal especializado e equipamento sofisticado
- Ultrassom	- Alta sensibilidade - Alta especificidade - Detecção de Va ³	- Alto custo - Pessoal técnico especializado

¹Mf - Microfilaria • ²W.b. - *Wuchereria bancrofti* • ³Va - Verme adulto • ⁴DEC - Dietilcarbamazina

indivíduo com a negatização do antígeno. Desta forma, os testes parasitológicos permanecem, no momento como a "ferramenta" diagnóstica e de acompanhamento pré e pós tratamento, com a demonstração ou não do parasito, como critério de cura.

AGRADECIMENTO

O autor agradece ao Professor André Freire Furtado pela revisão e comentários do artigo original e à Luciana Abrantes, Lindinalva Menezes e Virginia Guimarães pela seleção na coletânea e normatização dos periódicos utilizados neste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaral, F. Dreyer, G.; Figueredo-Silva, J. *et al.* Live adult worms detected by ultrasonography in human bancroftian filariasis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 50, p.753-757, 1994.
- Abbasi, I.; Hamburger, J.; Githure, J. *et al.* Detection of *Wuchereria bancrofti* DNA in patients' sputum by the polymerase chain reaction. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v.90, n. 1, p. 531-532, 1996.
- Ávila, S. L. M. & Ferreira, W. Malária. In: Ferreira, W. & Ávila, S. *Diagnóstico Laboratorial. Avaliação de métodos de diagnósticos das principais doenças infecciosas e parasitárias e auto-ímmunes. Correlação clínico-laboratorial.* Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, p. 157-164, 1996.
- Brasil. Ministério da Saúde. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. Departamento de Erradicação e Controle de Endemias. Filariose. In: *Demonstrativo dos resultados obtidos em 1985 e projeções para 1986.* Brasília: Ministério da Saúde, p. 83-88, 1996.
- Chanteau, S.; Luquiaud, P.; Failloux, A. B. *et al.* Detection of *Wuchereria bancrofti* larvae in pools of mosquitoes by the polymerase chain reaction. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 88, p. 665-666, 1994.
- Chanteau, S.; Moulia-Pelat, J. P.; Glaziou, P. *et al.* Og4C3 circulating antigen: a marker of infection and adult worm burden in *Wuchereria bancrofti* filariasis. *Journal of Infectious Diseases*, v. 170, p. 247-250, 1994.
- Chanteau, S.; Glaziou, P.; Moulia-Pelat, C. *et al.* Low positive predictive value of anti-*Brugia malayi* IgG and IgG4 serology for the diagnosis of *Wuchereria bancrofti*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 88, p. 661-662, 1994.

- Dennis, D.T. & Kaen, B. H. Isolation of microfilariae: report of new method. *Journal of Parasitology*, v. 57, p. 1146-1147, 1971.
- Dreyer, G.; Andrade, L.; Espírito Santo, M. *et al.* Avaliação do teste de imunofluorescência indireta para diagnóstico da filariose bancroftiana usando a microfilaria de *Wuchereria bancrofti* como antígeno, em Recife - PE, Brasil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 33, p.397-404, 1991.
- Dreyer, G.; Amaral, F.; Norões, J. *et al.* A new tool to assess the adulticidal efficacy *in vivo* of antifilarial drugs for bancroftian filariasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 89, p.225-226, 1995.
- Dreyer, G.; Addis, D.; Norões, J. *et al.* Ultrasonographic assessment of the adulticidal efficacy of repeated high-dose ivermectin in bancroftian filariasis. *Tropical Medicine and International Health*, v. 1, n. 4, p.427-432, 1996.
- Dreyer, G. & Rocha, A. Filariose bancroftiana. In: Ferreira, W. & Ávila, S. *Diagnóstico Laboratorial. Avaliação de métodos de diagnósticos das principais doenças infecciosas e parasitárias e auto-ímmunes. Correlação clínico-laboratorial.* Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan. Cap. 22, p. 194-200, 1996.
- Dreyer, G.; Santos, A.; Norões, J. *et al.* Amicrofilaraemic carriers of adult *Wuchereria bancrofti*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 90, p. 288-289, 1996.
- Dreyer, G.; Brandão, A. C.; Amaral, F. *et al.* Detection by ultrasound of living adult *Wuchereria bancrofti* in the female breast. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 91, p. 95-96, 1996.
- Dreyer, G.; Pimentel, A.; Medeiros, Z. *et al.* Studies on the periodicity and intravascular distribution of *Wuchereria bancrofti* microfilariae in paired samples of capillary and venous blood from Recife, Brazil. *Tropical Medicine and International Health*, v. 1, p.264-272, 1996.
- Dreyer, G.; Rocha, A.; Ribeiro Eunice, M. *et al.* O teste Og4C3 no diagnóstico da filariose bancroftiana: uso e limitações. *Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco*, v. 41, p.43-47, 1996.
- Eberhard, M.L.; Hightower, A.,W.; Addiss, D.,G *et al.* Clearance of *Wuchereria bancrofti* antigen after treatment with diethylcarbamazine or ivermectin. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v.57, n. 4, p.483-486, 1997.
- Faris, R.; Ramzy, R.M.R.; Gad, A. M. *et al.* Community diagnosis of bancroftian filariasis. *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 87, p.659-661, 1993.
- Figueredo-Silva, J.; Jungmann, P.; Norões, J. *et al.* Histological evidence for adulticidal effect of low doses of diethylcarbamazine in bancroftian filariasis. *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 90, p.192-194, 1996.
- Furtado, A.; Abath, F. G.; Regis, L. *et al.* Improvement and application of a polymerase chain reaction system for detection of *Wuchereria bancrofti* in *Culex quinquefasciatus* and human blood sample. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 92, p. 85-86, 1997.

21. Hagan, P. & Abath, F. G. C. Recent advances in immunity to human schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.87, p.95-98, 1992.
22. Ismail, M. M.; Weil, G. J.; Jayasinghe, K. S. *et al.* Prolonged clearance of microfilaremia in patients with bancroftian filariasis after multiple high doses of ivermectin or diethylcarbamazine. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 90, p.684-688, 1996.
23. Jungman, P.; Figueredo-Silva, J.; Dreyer, G. *et al.* Bancroftian lymphadenopathy-histological study of 58 cases from northeastern Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v 45, p. 325-331, 1991.
24. Knott, J. A. Method for making microfilarial surveys on day blood. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 32, p.191-196, 1939.
25. Kurniawan, A. A.; Yazdanbakhsh, M.; Ree, R. *et al.* Differential decline in filaria-specific IgG1, IgG4, and IgE antibodies in *Brugia malayi*-infected patients after diethylcarbamazine chemotherapy. *Journal of Infectious Diseases*, v.172, p.1567-1572, 1995.
26. Kwan-Lim, G. E.; Forsyth, K. P. & Maizels, R. M. Filial-specific IgG4 response correlates with active *Wuchereria bancrofti* infection. *Journal of Immunology* v. 145, p.4298-4305, 1990.
27. Lal, R. B. & Ottesen, E. A. Enhanced diagnostic specificity in human filariasis by IgG4 antibody assessment. *Journal of Infectious Diseases*, v. 158, p.1034-1037, 1988.
28. Lalitha, P.; Ravichandra, M.; Suba, S. *et al.* Quantitative assessment of circulating antigens in human lymphatic filariasis: a field evaluation of monoclonal antibody-based ELISA using blood collected on filter strips. *Tropical Medicine and International Health*, v. 3, p.41-45, 1998.
29. Lammie, P.J.; Addiss, D.G.; Leonard, G. *et al.* Heterogeneity in filarial-specific immune responsiveness among patients with lymphatic obstruction. *Journal of Infectious Diseases*, v. 167, p.1178-1183, 1993.
30. Lammie, P. J. ; Hightower, A.W. & Eberhard, M. L. The age-specific prevalence of antigenemia in a *Wuchereria bancrofti*-exposed population. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v.51, p.348-355, 1994.
31. Maizels, R. M.; Burke, J. A. & Denham D. A. Phosphorylcholine bearing antigens in filarial nematode parasites: analysis of somatic extracts, in vitro secretions and in infections sera from *Brugia malayi* and *B. pahangi*. *Parasite Immunology*, v. 9, p.49-61, 1987.
32. McCarthy, J.S.; Guinea, A.; Weil, G.J.; Ottesen, E. A. *et al.* Clearance of circulating filarial antigen as a measure of the macrofilaricidal activity of diethylcarbamazine in *Wuchereria bancrofti* infection. *Journal of Infectious Diseases*, v. 172, p.521-526, 1995.
33. Montenegro, S. M. L. Imunodiagnóstico. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 87, p. 333-335, 1992.
34. More, S. J. & Copeman, D. B. A highly specific and sensitive monoclonal antibody-based ELISA for the detection of circulating antigen in bancroftian filariasis. *Tropical Medicine and Parasitology* v.41, p.403-406, 1990.
35. Moulia-Pelat, J.; Nguyen L. N.; Hascoet, H. *et al.* Advantages of annual single dose of the combination ivermectin 400 mg/kg plus diethylcarbamazine for community treatment of bancroftian filariasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 89, p.682-685, 1995.
36. Nicolas, L.; Luquiaud, P.; Lardeux, F. *et al.* A polymerase chain reaction assay to determine infection of *Aedes polynesis* by *Wuchereria bancrofti*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v.90, p.136-139, 1996.
37. Nicolas, L.; Plichart, C.; Nguyen, L. N. *et al.* Reduction of *Wuchereria bancrofti* adult worm circulating antigen after annual treatments of diethylcarbamazine combined with ivermectin in French Polynesia. *Journal of Infectious Diseases*, v.175, p.489-492, 1997.
38. Norões, J.; Addiss, D.; Amaral, F. *et al.* Occurrence of living adult *Wuchereria bancrofti* in scrotal area of men with microfilaremia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v.90, p.55-56, 1996.
39. Norões, J.; Addiss, D.; Santos, A. *et al.* Ultrasonographic evidence of abnormal lymphatic vessels in young men with adult *Wuchereria bancrofti* infection in the scrotal area. *Journal of Urology* v.156, p.409-412, 1996.
40. Norões, J.; Dreyer, G.; Santos, A. *et al.* Assessment of the efficacy of diethylcarbamazine on adult *Wuchereria bancrofti* in vivo. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v.91, p.78-81, 1997.
41. Ottesen, E. A.; Skvaril, F.; Tripathy, S. P. *et al.* Proeminence of IgG4 antibody response to human filariasis. *Journal of Immunology*, v.134, p.2707-2712, 1985.
42. Ottesen, E.A. Filarial infections. *Infectious Diseases Clinics of North America*, v.7, p.619-633, 1993.
43. Ottesen, E. A.; Duke, B. L.; Karam, M. *et al.* Strategies and tools for control/elimination of lymphatic filariasis. *Bulletin of the World Health Organization* v.75, n. 6, p. 491-503, 1997.
44. Ramachandran, C. P. Report on multicenter effort to develop improved immunodiagnostic test to monitor onchocerciasis control programs. *Parasitology Today*, v. 9, p.76-79, 1993.
45. Rocha, A. *Estudo imunológico da síndrome de eosinofilia pulmonar tropical causada pela filária e outros helmintos*. Dissertação de Mestrado, Fundação Oswaldo Cruz, 1995.
46. Rocha, A.; Dreyer, G.; Poindexter, R. W. *et al.* Syndrome resembling tropical eosinophilia but of non-filarial aetiology: serologic findings with filarial antigens. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v.89, p.573-575, 1995.
47. Rocha, A.; Addiss, D.; Ribeiro, M. E. *et al.* Evaluation of the OG4C3 ELISA in *Wuchereria bancrofti* infection: infected persons with undetectable or ultra-low microfilarial densities. *Tropical Medicine and International Health*, v.1, p.859-864, 1996.
48. Santhanam, S.; Kumar, H.; Sethumadhavan, K. V. P. *et al.* Detection of *Wuchereria bancrofti* antigen in serum and finger prick blood samples by enzyme immunoassay: field evaluation. *Tropical Medicine and Parasitology*, v.40, p.440-444, 1989.
49. Santos, L. G.; Santos, D. S. & Azevedo, R. Diagnosis of *Wuchereria bancrofti* by immunofluorescence using microfilaria as antigen. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, v. 70, p.219-225, 1976.
50. Siridewa, K.; Karunanayake, E. H.; Chandrasekharan, M. *et al.* Polymerase chain reaction-based technique for the detection of *Wuchereria bancrofti* in human blood samples, hydrocele fluid and mosquito vectors. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 54, p. 72-76, 1996.
51. Turner, P.; Coperman, B.; Gerisi, D. *et al.* A comparison of the Og4C3 antigen capture ELISA, the Knott, and IgG4 assay and clinical signs in the diagnosis of bancroftian filariasis. *Tropical Medicine and Parasitology*, v.44, p.45-48, 1993.
52. Weil, G. J.; Jain, D. C.; Santhanam, S. *et al.* A monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for detecting parasite antigenemia in bancroftian filariasis. *Journal of Infectious Diseases*, v. 156, p.350-355, 1987.
53. Weil, G. J. & Liftis, F. Identification and partial characterization of a parasite antigen in sera from humans infected with *Wuchereria bancrofti*. *Journal of Immunology* v.138, p.3035-3041, 1987.
54. Weil, G. J.; Sethumadhavan, K.V.P.; Santhanam, S. *et al.* Persistence of parasite antigenemia following diethylcarbamazine therapy of bancroftian filariasis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 38, p.589-595, 1988.
55. Weil, G.J.; Lammie, P.J.; Richards, F.O. *et al.* Changes in circulating parasite antigen levels after treatment of bancroftian filariasis with diethylcarbamazine and ivermectin. *Journal of Infectious Diseases*, v. 164, p. 814-816, 1991.
56. Weil, G. J.; Ramzy, R. M.R.; Chandrashekar, R. *et al.* Parasite antigenemia without microfilaremia in bancroftian filariasis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v.55, n. 3, p.333-337, 1996.
57. Weil, G. J.; Lammie, P. J. & Weiss, N. The ICT filariasis test: a rapid-format antigen test for diagnosis of bancroftian filariasis. *Parasitology Today*, v.13, n.10, p.401-404, 1997.
58. Williams, S. A.; DeSimonme, S. M. & McReynolds, L. A. Species-specific oligonucleotide probes for the identification of human filarial parasites. *Molecular and Biochemical Parasitology*, v. 28, p. 163-170, 1988.
59. Williams, S. A.; Lizotte-Waniewski, M. R.; Hoti, S. *et al.* PCR-based detection of filarial infections in mosquitoes and human blood samples. International Workshop on Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Pathogenic Microorganisms. CDC and ORSTOM/CNRS, Atlanta, USA, 17-19 June 1996.
60. Williams, S. A.; Nicolas, L.; Lizotte, M. *et al.* Use of a polymerase chain reaction assay for the detection of *Wuchereria bancrofti* in blood samples from Tahiti. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v.90, p.384-387, 1996.
61. World Health Organization. *Fifth report of the Who Expert Committee on Filariasis, lymphatic filariasis: the disease and control*. Geneva:WHO, 1992.
62. World Health Organization. *Lymphatic filariasis infection and disease. Control strategies*. Report of consultative meeting: a held at the University Sains Malaysia, Penang, Malaysia, 1994.
63. Zheng, H, Z.; Tao, Z.; Readdy, M. V. R. *et al.* Parasite antigens in sera and urine of patients with bancroftian and brugian filariasis detected by sandwich ELISA with monoclonal antibodies. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 36, p.554-560, 1987.
64. Zhong, M.; Mc Carthy, J.; Bierwert, L. *et al.* A PCR assay for detection of *Wuchereria bancrofti* in blood. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 54, p.357-363, 1996.

Endereço para correspondência

Dr. Abraham Rocha
 Depto. de Parasitologia/Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ.
 Av. Moraes do Rego, s/nº, Campus da UFPE
 Cidade Universitária, Recife, PE, Brasil, 50670-420
 Fone (0xx81)271-4000, Fax (0xx81)453-2449
 e-mail: rocha@cpqam.fiocruz.br

Avaliação dos níveis plasmáticos do fragmento 1+2 da protrombina (F_{1+2}) na Doença Hipertensiva Específica da Gravidez (DHEG)

Prothrombin fragment 1+2 (P_{1+2}) evaluate from plasma levels in pregnant women showing pre-eclampsia

Luci Maria Sant'Ana Dusse, Lauro Mello Vieira & Maria das Graças Carvalho

RESUMO - O fragmento 1+2 da protrombina (F_{1+2}) é liberado durante a ativação da cascata da coagulação, quando o complexo protrombinase atua sobre a protrombina para convertê-la em trombina. O F_{1+2} constitui, portanto, um marcador da geração de trombina *in vivo*. A Doença Hipertensiva Específica da Gravidez (DHEG) caracteriza-se por hipertensão, proteinúria e edema. Apesar de inúmeros estudos, a etiologia e fisiopatologia da DHEG é desconhecida. A interrupção da gestação constitui medida terapêutica freqüente e tem como consequência o aumento da mortalidade neonatal. O objetivo do presente estudo foi avaliar os níveis plasmáticos de F_{1+2} na DHEG, em diferentes formas clínicas, visando esclarecer a possível utilização desse marcador laboratorial para diagnóstico e/ou prognóstico da doença. Os dados relatados no presente estudo aliados aos dados da literatura não permitem concluir sobre a utilidade da determinação dos níveis plasmáticos de F_{1+2} como um método de potencial aplicação para se estabelecer a gravidade da DHEG em função das alterações hemostáticas que resultam em hipercoagulabilidade.

PALAVRAS-CHAVE - F_{1+2} , Doença Hipertensiva Específica da Gravidez.

ABSTRACT - Prothrombin fragment 1+2 (F_{1+2}) is released as result of the coagulation system activation in which prothrombinase is generated and cleaves the prothrombin in thrombin. Measurements of F_{1+2} constitutes an efficient marker of thrombin formation *in vivo*. Pre-eclampsia is characterized by hypertension, proteinuria and swelling. In spite of several studies developed on this matter, the aetiology and physiopathology of pre-eclampsia remain unclear. Pregnancy interruption is often used as a therapeutic measure resulting in a neonatal mortality increase. The aim of this study was to evaluate the plasma levels of F_{1+2} in pregnant women showing different clinical status of pre-eclampsia and investigate the potential use of this laboratory marker for diagnosis and/or prognosis of this disease. The data obtained in the present study in addition to the literature data do not allow to conclude the usefulness of the F_{1+2} plasma levels measurement as a method with potential application to establish the severity pre-eclampsia relating to the hemostatic alterations which result in hypercoagulability.

KEY WORDS - F_{1+2} , pre-eclampsia.

INTRODUÇÃO

A etapa final da cascata da coagulação sanguínea inclui a ação do complexo protrombinase, formado pelos fatores Xa e Va, íons cálcio e fosfolípides plaquetários, sobre a protrombina (fator II). Dessa forma, ocorre uma primeira clivagem e a liberação de um fragmento inativo, o fragmento 1+2 da protrombina, ou F_{1+2} . Segue-se, então, uma segunda clivagem que resulta na formação de trombina/fator IIa (Scazziota, Altman, 1995; Handin *et al.*, 1995). A trombina atua sobre a molécula de fibrinogênio liberando o peptídeo A da cadeia α (FPA) e, posteriormente, o peptídeo B da cadeia β (FPB), dando origem ao polímero de fibri-

na, unidade básica da fibrina. Os polímeros resultantes são instáveis e, por ação do fator XIIIa, adquirem maior coesão e estabilidade, originando a malha de fibrina estável e resistente à ação de proteases (Scazziota, Altman, 1995). Recentemente foram desenvolvidos métodos para determinação plasmática de F_{1+2} e FPA/FPB e os níveis desses têm sido utilizados, respectivamente, como marcadores da geração de trombina e da produção de fibrinogênio *in vivo* (Tripodi & Mannucci, 1996). É importante ressaltar o avanço que representa tais metodologias, considerando-se que os testes clássicos de avaliação laboratorial da coagulação sanguínea, embora de grande eficácia para avaliar os estados de hipocoagulabilidade, não são ade-

Recebido em 18/8/2000
Aprovado em 22/8/2000

Deptº de Análises Clínicas e Toxicológicas - Faculdade de Farmácia - UFMG

quados para detectar a exacerbação da ativação da coagulação.

A Doença Hipertensiva Específica da Gravidez (DHEG), na sua forma pura, caracteriza-se pelo aparecimento em grávida normotensa, após a vigésima semana de gestação, da tríade sintomática: hipertensão, proteinúria e edema. É uma doença incurável, exceto pela interrupção da gravidez e pode evoluir para quadros ainda mais complexos como eclâmpsia, síndrome HELLP (*Haemolysis, elevated liver enzyme activity, low platelets*) ou CID - Coagulação Intravascular Disseminada (Delascio, 1983; Sibai, 1993). A DHEG constitui a principal causa de morte materna em diversos países do mundo e contribui, significativamente, para a prematuridade, o baixo peso fetal e o aumento da mortalidade neonatal. Na Maternidade Odete Valadares, em Belo Horizonte, M.G., onde o presente estudo foi realizado, a DHEG ocorre em cerca de 12% das gestantes e está associada a um elevado custo social, pois, via de regra, resulta na internação da gestante e/ou do recém-nascido por mais de 20 dias. A despeito de inúmeros estudos, a etiologia da DHEG é desconhecida.

Consideráveis evidências têm demonstrado que o estado de hipercoagulabilidade verificado na gravidez normal que provavelmente, visa impedir um sangramento excessivo no momento do parto ou de um aborto, torna-se exagerado na DHEG. Nessa doença tem sido verificada uma formação aumentada de fibrina que pode levar à oclusão da luz de vasos, especialmente uteroplacentários e renais, com conseqüente surgimento de áreas isquêmicas (Gilbert *et al.*, 1995, Higgins *et al.*, 1998).

O objetivo do presente estudo foi avaliar os níveis plasmáticos de F_{1+2} na DHEG, em diferentes formas clínicas, visando esclarecer a possível utilização desse marcador laboratorial para diagnóstico e/ou prognóstico da doença.

MATERIAL E MÉTODO

Este estudo foi previamente analisado sob os pontos de vista ético e formal, pela Comissão de Ética da Maternidade Odete Valadares, em Belo Horizonte - Minas Gerais, de onde as gestantes foram selecionadas. Todas as gestantes envolvidas no estudo foram devidamente informadas dos objetivos da pesquisa e o consentimento livre e esclarecido foi obtido em todos os casos. Para este estudo foram constituídos três grupos: grupo-controle (n=18), grupo de gestantes apresentando DHEG pura nas formas leve/moderada (n=22) e na forma grave (n=19). Os critérios de inclusão das gestantes do grupo-controle foram: pressão sistólica/diastólica inferior a 120/80mmHg, sem qualquer história de hipertensão e ausência de proteinúria. Para o grupo de gestantes apresentando a DHEG pura, foram utilizados os critérios determinados pelo Comitê de Terminologia do Colégio Americano de Obstetras e Ginecologistas (Hughes, 1972), que incluem o surgimento de hipertensão gestacional associada a proteinúria ou edema generalizado ou ambos, a

partir da vigésima semana de gestação, em gestantes até então normotensas. A classificação da DHEG como leve, moderada ou grave foi feita pela equipe obstétrica, baseando-se nos valores da pressão sanguínea e da proteinúria. Os critérios de exclusão, comuns aos três grupos, foram obesidade, presença de doenças intercorrentes como distúrbios da coagulação, doenças cardiovasculares, doenças renais, doenças autoimunes, doenças hepáticas, diabetes, câncer e presença de sangramento de qualquer natureza.

Amostra biológica

Foram coletadas de cada gestante, no terceiro trimestre da gravidez, amostras de 2,7mL de sangue venoso, diretamente em tubos do sistema *vacutainer* contendo citrato de sódio (*Becton Dickinson*), devidamente identificados.

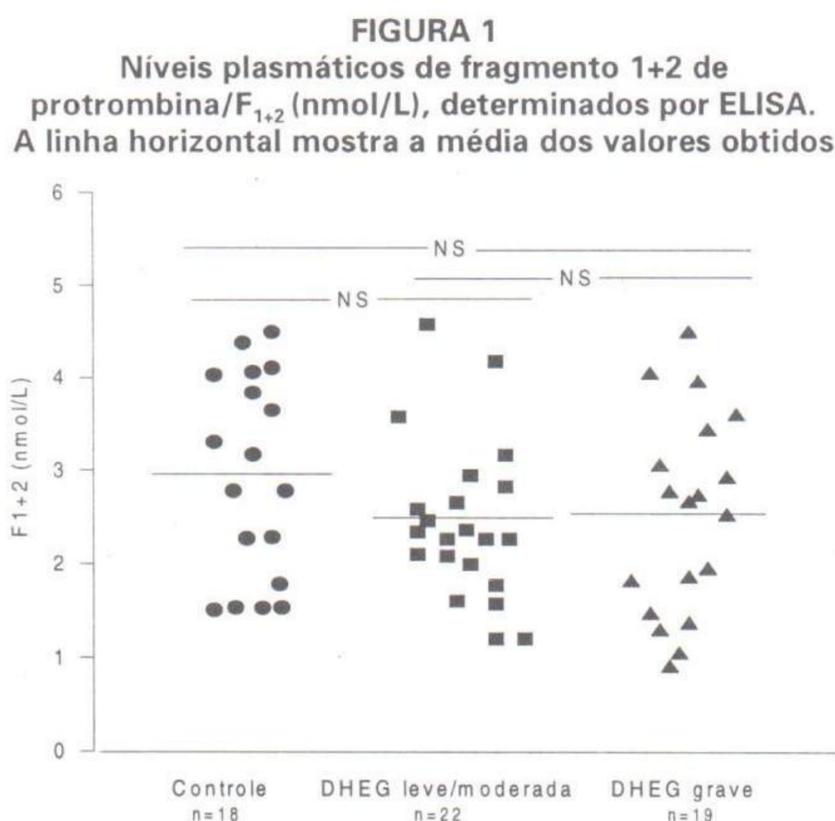
Método

A determinação dos níveis plasmáticos de F_{1+2} foi feita por ELISA, utilizando-se o conjunto diagnóstico Enzygnost F_{1+2} (Behring Diagnostic GmbH-A, Marburg-Germany), seguindo-se rigorosamente as instruções do fabricante. A análise estatística foi realizada empregando-se o software Systat v. 8.03. A existência de diferenças significativas entre os grupos, foi apurada por análise de variância (ANOVA). O parâmetro para rejeição ou não da hipótese testada foi um valor $p < 0.05$.

RESULTADOS

As médias e desvios-padrão dos resultados dos níveis plasmáticos de F_{1+2} para o grupo-controle, grupo com DHEG leve/moderada e com DHEG grave foram, respectivamente, 2.94 ± 1.09 , 2.45 ± 0.85 e 2.50 ± 1.07 .

A dispersão dos valores obtidos para níveis plasmáticos de F_{1+2} , nos três grupos, pode ser observada na Figura 1.



Análise de variância. NS=Não significativo.

A análise estatística dos resultados obtidos revelou que não houve diferença entre as médias dos três grupos avaliados.

DISCUSSÃO

Confirmando o aumento da coagulabilidade sanguínea na gravidez (Gilbert *et al.*, 1995), no presente trabalho foi observado um aumento nos níveis plasmáticos de F_{1+2} , de aproximadamente quatro vezes, nos três grupos avaliados em relação aos valores obtidos para a população normal (avaliada no mesmo laboratório onde este trabalho foi realizado e utilizando-se a mesma metodologia), cuja média e desvio-padrão foram 0.622 ± 0.217 (Ferreira, 1998). No entanto, não foram observadas diferenças entre os três grupos avaliados. Considerando-se a hipótese de uma exacerbação ainda mais acentuada da ativação da coagulação na DHEG, como sugerem diversos relatos da literatura (Cadroy *et al.*, 1993; Konijnenberg *et al.*, 1997), era de se esperar um aumento de F_{1+2} nessa doença. A não obtenção desse aumento, necessita uma interpretação cautelosa. Não se pode descartar a hipótese de que tenha ocorrido, na DHEG, um consumo dos fatores da coagulação superior à capacidade de síntese dos mesmos pelo fígado, de modo que no momento em que a gestante foi avaliada não havia protrombina em quantidade suficiente para gerar um aumento nos níveis plasmáticos de F_{1+2} . Considerando-se tal hipótese, pode-se inferir que os níveis plasmáticos de F_{1+2} não constituem um marcador eficaz para detectar um sistema da coagulação perigosamente ativado na DHEG.

Em um estudo relatado na literatura, onde foram investigados os níveis plasmáticos de F_{1+2} em gestantes com DHEG (Cadroy *et al.*, 1993), não foi observada uma alteração acentuada da concentração plasmática desse fragmento ao longo da gestação. Esses investigadores questionaram a fidedignidade, da determinação plasmática de F_{1+2} para avaliar a produção de trombina e admitiram que é possível que algumas moléculas de F_{1+2} fiquem retidas na superfície catalítica fosfolipídica onde foram formadas, não sendo liberadas para a circulação, o que resultaria em níveis plasmáticos não consistentes com a real taxa de conversão de protrombina em trombina. Considerando-se os resultados do presente estudo, essa hipótese não procede, uma vez que nos três grupos de gestantes avaliados foi observado um aumento, de cerca de quatro vezes, nos níveis plasmáticos de F_{1+2} em relação aos valores obtidos fora da gravidez.

Os dados relatados no presente estudo, aliados aos dados da literatura (Cadroy *et al.*, 1993), não permitem concluir sobre a utilidade da determinação dos níveis plasmáticos de F_{1+2} como um método de potencial aplicação para se estabelecer a gravidade da DHEG em função das alterações hemostáticas que resultam em hipercoagulabilidade. Apesar da literatura indicar o F_{1+2} como um excelente marcador

da geração de trombina (Tripodi & Mannucci, 1996), o presente estudo não suporta a hipótese de maior formação de trombina na DHEG, quando comparada à gestação normal. No entanto, cumpre ressaltar que os níveis plasmáticos de F_{1+2} foram significativamente elevados em gestantes normais quando comparadas aos resultados observados na ausência de gravidez, confirmando a exacerbação da coagulação na gestação (Gilbert *et al.*, 1995). Esse dado vem reforçar a idéia de que o F_{1+2} realmente seja um útil marcador de hipercoagulabilidade, exceto em situações como na DHEG ou, de uma forma mais abrangente, em condições nas quais está havendo consumo dos fatores da coagulação ou síntese prejudicada desses pelo fígado.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG, à Pró-Reitoria de Pesquisa da UFMG, às equipes de Ginecologia/Obstetrícia e de Enfermagem da Maternidade Odete Valadares, em Belo Horizonte-M.G., de modo especial, ao Dr. Antônio Fernandes Lages.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cadroy, Y., Grandjean, H., Pichon, J., Desprats, R., Berrebi, A., Fournié, A. Evaluation of six markers of haemostatic system in normal pregnancy and pregnancy complicated by hypertension or pre-eclampsia. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, v.100, p.416-420, 1993.
2. Delascio, D. *Hipertensão na gravidez*. São Paulo: Savier, 1983. 169p.
3. Ferreira, C. N. *Avaliação do mecanismo da coagulação e da agregação plaquetária em indivíduos portadores de próteses mecânicas ou biológicas*. Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia/UFMG, 1998. 90p. (Dissertação, Mestrado).
4. Gilbert, J., Estellés, A., España, F., Grancha, S., Aznar, J. Modifications of the hemostasis in obstetricia. *Rev. Iberoamer. Tromb. Hemostasia*, v.8, p.102-12, 1995.
5. Handin, R. I., Lux, S. E., Stossel, T. P. *Blood: principles, practice of hematology*. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1995. 2305p.
6. Higgins, J. R., Walshe, J. J., Darling, M. R. N., Norris, L., Bonnar, J. Haemostasis in the uteroplacental and peripheral circulations in normotensive and pre-eclamptic pregnancies. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v.179, p.520-526, 1998.
7. Hughes, E. C. *Obstetric-gynecology terminology*. Philadelphia: F.A. Davis, 1972. 2045p.
8. Konijnenberg, A., Stokkers, E. W., Post, J. A. M. V. D., Schaap, M. C. L., Boer, K., Bleker, O. P., Sturk, A. Extensive platelet activation in preeclampsia compared with normal pregnancy: enhanced expression of cell adhesion molecules. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v.176, p.461-469, 1997.
9. Scazzioti, A., Altman, R. El mecanismo de la hemostasia normal. *Rev. Iberoamer. Tromb. Hemostasia*, v.1, p.9-26, 1996.
10. Sibai, B. M., Ramadan, M. K., Usta, I. Maternal morbidity and mortality in 442 pregnancies with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets HELLP syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v.69, p.1000-1006, 1993a.
11. Tripodi, A.; Mannucci, P. M. Markers of activated coagulation and their usefulness in the clinical laboratory. *Clin. Chem.*, v.42, n.5, p. 664-669, 1996.

Endereço para correspondência

Profª Luci Maria Sant'Ana Dusse
Faculdade de Farmácia/UFMG
Av. Olegário Maciel, 2360/608 - Lourdes,
Belo Horizonte, MG, 30410-110

PRÊMIO PNCQ

REGULAMENTO



I - DO PRÊMIO

- 1) O "Prêmio PNCQ" é promovido pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, com o patrocínio do Programa Nacional de Controle de Qualidade - PNCQ;
- 2) O Prêmio será no valor correspondente a US\$ 1,500 dólares americanos na data do Congresso, além de diploma alusivo;
- 3) O Prêmio será entregue na solenidade programada pela SBAC nos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas - CBAC.

II - DOS OBJETIVOS

O "Prêmio PNCQ" tem por objetivo:

- 1) Estimular o desenvolvimento de pesquisas na área de Controle de Qualidade no País; e
- 2) Premiar o melhor trabalho apresentado na sessão de Temas Livres dos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas, com vistas à melhoria técnica do Laboratório Clínico.

III - DA PARTICIPAÇÃO

- 1) Poderão concorrer ao Prêmio, todos os trabalhos inscritos e apresentados na sessão de Temas Livres dos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas;
- 2) Para concorrer ao Prêmio, os autores deverão remeter à Secretaria da SBAC, até 45 dias antes do Congresso, 5 (cinco) cópias do trabalho original completo, atendendo às normas de publicação da Revista Brasileira de Análises Clínicas, contendo: introdução (com objetivo definido do trabalho) material e métodos, resultados, discussão, conclusão, bibliografia, resumo em português, summary em inglês, palavras chaves (unitermos) e key words (uniterms).
- 3) Os trabalhos concorrentes deverão ser escritos em português e serem originais, ainda não publicados nem comprometidos para publicação em qualquer Revista Científica da Especialidade;
- 4) O trabalho premiado será publicado com exclusividade na Revista Brasileira de Análises Clínicas e deverá ser obrigatoriamente apresentado pelo autor (ou autores) aos congressistas do CBAC em que foi premiado, em dia e hora determinados pela Comissão Julgadora do Prêmio e Comissão Organizadora do CBAC. Para isto, é necessário que o(s) autor(es) compareça(m) ao Congresso preparado(s) para fazer tal apresentação com slides, transparências e outros recursos que o(s) autor(es) julgar(em) pertinente(s);
- 5) Os demais trabalhos selecionados pela Comissão Julgadora ao "Prêmio PNCQ", poderão ser publicados na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 6) O não atendimento aos itens 1 a 4 desqualifica o trabalho e/ou o recebimento do Prêmio.

IV - DA COMISSÃO JULGADORA

- 1) A Comissão Julgadora será composta de pelo menos 5 (cinco) membros nomeados pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, sendo um o Presidente;
- 2) A composição da Comissão Julgadora será divulgada pela SBAC nos programas oficiais dos CBAC;
- 3) A Comissão Julgadora selecionará os 3 (três) melhores trabalhos apresentados, outorgando a um deles o "Prêmio PNCQ", e aos outros 2 (dois), um diploma de Menção Honrosa;
- 4) A decisão da Comissão Julgadora é soberana e irrecorrível.

V - DISPOSIÇÕES GERAIS

- 1) O "Prêmio PNCQ" é indivisível e será conferido a apenas um trabalho, ficando a inteiro critério dos autores seu eventual rateio;
- 2) O trabalho inscrito mas não apresentado na sessão de Temas Livres do Congresso, será desclassificado para concorrer ao "Prêmio PNCQ";
- 3) O trabalho concorrente ao Prêmio, deve ser apresentado na sessão de Temas Livres obrigatoriamente por um dos autores regularmente inscrito no Congresso;
- 4) Os casos omissos serão resolvidos pela Diretoria da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, ouvida a Comissão Julgadora.

Rio de Janeiro, 26 de Janeiro de 1996.

Dr. Humberto Marques Tibúrcio
Presidente

Informações

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
Prêmio PNCQ

Rua Vicente Licínio, 95 • Rio de Janeiro • RJ • 20270-340

e-mail: congresso@sbac.org.br

Prevalência de vaginites específicas e inespecíficas em mulheres na pós-menopausa*

Prevalence of non-specific and specific vaginitis in postmenopause women

Maria Salete Rebouças Cardoso¹; Elení Souto Nóbrega Ramos¹; Ana D'arc Pessoa de Castro¹; Diana Karla Nobrega Ramos²; Dany Geraldo Kramer Cavalcanti e Silva² & Geraldo Barroso Cavalcanti Júnior³

RESUMO - O climatério é o período da vida feminina caracterizada pelo esgotamento dos folículos ovarianos, tendo como consequência a diminuição dos níveis de estrogênio e progesterona, resultando em alterações fisiológicas sobre a pele, mucosas, ossos e metabolismo lipoprotéico, sendo a menopausa um episódio dentro do climatério que representa a última menstruação da vida da mulher. Com a deficiência estrogênica, o epitélio vaginal torna-se atrófico e de pequena espessura, levando conseqüentemente a uma diminuição da produção de glicogênio e baixo teor de acidez, favorecendo o surgimento de vaginites, as quais poderão ser de origem específica ou inespecífica. Este trabalho teve como objetivo analisar a prevalência de vaginites específicas e inespecíficas em mulheres na pós-menopausa. Foram analisadas 533 mulheres de faixa etária compreendida entre 40 e 65 anos de idade, cujas amostras foram obtidas através de colheita triplíce (ectocérvice, endocérvice e fundo de saco vaginal), com posterior coloração pela técnica de Papanicolaou. Os resultados demonstraram que das 533 mulheres examinadas, houve predomínio de vaginites inespecíficas determinadas por flora mista, em 44,5% das pacientes, seguida por infecções ocasionadas pela *Gardnerella vaginalis* em 10% das pacientes. As vaginites específicas por sua vez tiveram como predomínio às infecções provocadas pela *Candida sp* em 156 casos (27,3%) seguidas pelo *Trichomonas vaginalis* observada em 72 pacientes (12,6%), tendo sido observada uma maior incidência destes agentes em mulheres com faixa etária variando entre 40 a 49 anos, seguida por aquelas com idade variando entre 50 a 59 anos de idade. Estes dados chamam a atenção para uma análise cuidadosa de esfregaço vaginal em mulheres na pós-menopausa em especial naquelas com sinais e sintomas de vaginites.

PALAVRAS CHAVE - Climatério; vaginites específicas e inespecíficas; menopausa.

SUMMARY - Climateric is a feminine life period characterized by the ovarian follicles exhaustion, having as consequence estrogen and progesterone levels decrease, resulting in physiologic alterations in the skin, mucous, bones and metabolism of lipoprotein, where the menopause becomes an episode inside climateric that represents the last menstruation of the woman's life. With the estrogenic deficiency, the vaginal epithelium becomes atrophic and less thick causing consequently a glycogen production decrease and low acidity vaginal, favoring vaginitis appearance, which ones can have to specific or non-specific origin. This work had as objective to analyze specific and non-specific vaginitis prevalence in women in the postmenopause. We analyzed 533 women with age group between 40 and 65 years old. The samples were obtained through triple collection (ectocervix, endocervix and vaginal sack fund smears), with later staining by Papanicolaou's technique. The results demonstrated that in 533 women analyzed, the prevalence of non-specific vaginitis was due to mixed bacteria, 44.5% of the patients, followed by *Gardnerella vaginalis* in 10% of patients. The specific vaginitis due to *Candida sp* was seen in 156 cases (27.3%), followed by *Trichomonas vaginalis* observed in 72 patients (12.6%). A larger incidence of these biologic agents was observed in women in the age group varying between 40 to 49 years, followed by those with age varying between 50 to 59 years old. These data call the attention for a careful analysis of vaginal smear in women in the postmenopause, specially in those with vaginitis signal and symptoms.

KEY WORDS - Climateric; non-specific and specific vaginitis; menopause.

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

No ciclo biológico feminino, a menopausa representa uma das fases mais importantes, a qual consiste do período final da capacidade reprodutiva da mulher, sendo caracterizada pela falência das funções ovarianas. Este período ocorre geralmente entre os 40

e 45 anos, sendo marcado por manifestações clínicas de ordem neurogênicas, psicogênicas, metabólicas, genitúrinárias e cutâneas dentre outras^{1,8}.

Os sinais e sintomas associados à menopausa resultam da diminuição gradativa do estrogênio circulante, sendo muito comum nesta fase, o surgimento de processos inflamatórios ginecológicos, principal-

Recebido em 02/8/2000
Aprovado em 09/11/2000

*Trabalho Realizado na Disciplina de Citologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

¹Professoras Adjuntas do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da UFRN; ²Alunos do curso de Farmácia (Análises Clínicas e Toxicológicas) da UFRN;

³Professor Assistente do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da UFRN.

mente as vaginites específicas e inespecíficas, associados às manifestações já citadas³⁻⁹.

Ocorre nesta fase uma mudança no pH vaginal, o qual se torna alcalina, em virtude do decréscimo dos hormônios esteróides, tornando o epitélio vaginal mais susceptível ao ataque de microorganismos e atípicas degenerativas bem como a processos inflamatórios em decorrência da diminuição da defesa estabelecida pelo epitélio pavimentoso estratificado, em virtude da diminuição de suas camadas celulares^{2,5}.

As vaginites são processos inflamatórios que acometem o tecido da vagina, apresentando geralmente como sintomatologia a leucorreia, podendo ser de natureza infecciosa ou não infecciosa⁸.

Dentre os agentes infecciosos que acometem as mulheres nesta fase os mais freqüentes são: *Trichomonas vaginalis*, *Monília* ou *Candida*, e *Gardnerella vaginalis*^{4,7-13}.

A Tricomoníase é causada pelo *Trichomonas vaginalis*, protozoário cosmopolita, anaeróbico, que apresenta quatro flagelos e membrana ondulante, e que se prolifera melhor em meio úmido e com pH 4,9 - 7,5, sendo a sua principal transmissão através da relação sexual^{1,10-13}.

A Candidíase é uma infecção causada pelo fungo do gênero cândida, *Candida albicans*, e é um agente oportunista que vive em forma comensal na vagina, necessitando de condições adequadas para seu desenvolvimento; como são aquelas onde há um elevado teor de glicogênio propiciando uma elevada acidez, no caso da gravidez em mulheres obesas e no diabetes melitus, podendo também esta infecção surgir em usuárias de antibióticos e corticosteróides, bem como, em pacientes imunossuprimidas^{10,11}.

A *Gardnerella vaginalis* é o agente responsável por grande parte das vaginites inespecíficas. São bastonetes encurvados, polimorfos e gram-negativos, observados em grande número tanto entre as células do tecido pavimentoso estratificado como aderidos em sua superfície, as quais se denominam "clue cells"¹⁰.

O presente trabalho apresenta um estudo citomorfológico dos esfregaços cérvico-vaginais de mulheres na pós-menopausa, com a finalidade de estabelecer a prevalência de vaginites específicas e inespecíficas em pacientes atendidas no Serviço de Citologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, no período de 1995 a 1997.

CASUÍSTICA E METODOLOGIA

Casuística

Foi realizada uma avaliação citomorfológica do raspado cérvico-vaginal de 533 mulheres na pós-menopausa, portadoras de vaginites e atendidas no Serviço de Citologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas (DACT) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), no período de 1995 a 1997.

Paralelamente, foram coletados dados referentes às

pacientes em formulários para posterior análise de correlação.

Metodologia

Os esfregaços foram confeccionados utilizando-se a técnica da colheita tríplice (ectocérvix, endocérvix e fundo de saco vaginal) os quais foram imediatamente submetidos à fixação pelo álcool etílico P.A. e posteriormente corados pela técnica de Papanicolaou, sendo em seguida montadas em lamínulas para posterior análise em microscópio óptico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados demonstraram que das 533 pacientes com citologia inflamatória na pós-menopausa, observou-se predomínio de vaginites inespecíficas determinadas por flora mista em 254 pacientes (44,5%) seguidas por infecções ocasionadas pela *Gardnerella vaginalis* em 10% das pacientes.

As vaginites específicas, por sua vez, tiveram como predomínio as infecções provocadas pela *Candida sp* em 156 casos (27,3%), seguidas pelo *Trichomonas vaginalis* em 72 pacientes (12,6%), conforme mostra a Tabela I.

Segundo Passos¹¹, a incidência destas infecções varia em relação às classes econômicas pesquisadas, predominando em mulheres de meio economicamente mais desfavorecidas, corroborando estas informações com os nossos achados, visto que a população analisada neste estudo foi constituída por mulheres de baixa condição socio-econômica o que talvez justifique a alta incidência destes agentes nestas pacientes.

Alguns autores têm afirmado que a maioria dos casos de mulheres portadoras de infecções vaginais são divididos em 3 categorias de acordo com o agente etiológico:

a) as vaginites inespecíficas que ocorrem com uma freqüência variando entre 40 a 50% dos casos;

TABELA I
Freqüência dos agentes infecciosos específicos e inespecíficos em mulheres na menopausa no período 1995 a 1997

Agentes Infecciosos	Nº	%
Flora mista	254	44,5
Flora cocóide	32	5,6
<i>Trichomonas vaginalis</i>	72	12,6
<i>Candida sp</i>	156	27,3
<i>Gardnerella vaginalis</i>	57	10,0
TOTAL	571	100,0

Fonte: Serviço de Citologia do DACT-UFRN.

TABELA II
Distribuição dos agentes infecciosos específicos e inespecíficos,
considerando a faixa etária, no período de 1995 a 1997

Agente infeccioso	Flora mista		Flora cocóide		<i>Trichomonas vaginalis</i>		<i>Candida sp</i>		<i>Gardnerella vaginalis</i>	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
40 a 49 anos	157	61,8	22	68,8	60	83,3	117	75,0	43	75,4
50 a 59 anos	75	29,5	06	18,7	12	16,7	33	21,2	21,2	24,6
60 a 65 anos	22	8,7	04	12,5	0	(-)	06	3,8	0	(-)
Total	254	100	32	100	72	100	156	100	57	100

Fonte: Serviço de Citologia do DACT-UFRN

b) as infecções por *Candida*, cuja incidência varia entre 20 e 30% das vaginites e,

c) e a tricomoníase que incide em cerca de 20 a 30% dos casos^{8,9,11}.

Com relação à faixa etária, observou-se uma maior incidência desses agentes em mulheres com faixa etária variando entre 40 a 49 anos, seguido por aquelas com idade variando entre 50 a 59 anos de idade.

Carvalho⁴ e Passos¹¹, analisando dados referentes a pacientes com infecções ginecológicas, descreveram que 95 a 98% das vaginites sintomáticas são devidas a infecções por *Gardnerella vaginalis* com uma incidência de 53%, *Candida sp.* (20,5%) e *Trichomonas vaginalis* (9,8%), sendo porém, cerca de 2,5% destas infecções causadas por agentes não determinados. Os referidos autores concluem também que uma maior predominância destas infecções ocorre em mulheres na faixa etária de 40 a 49 anos, e numa menor, em uma faixa etária mais avançada, estando estas afirmativas de acordo com os achados do presente estudo.

Em relação à incidência de *Trichomonas vaginalis* observou-se uma maior frequência deste protozoário em pacientes com faixa etária, variando entre 40 a 49 anos, tendo sido também observado a ausência deste protozoário em mulheres com idade superior a 60 anos, achado este condizente com afirmações de outros autores, os quais preconizam que este agente tem sua incidência mais elevada em mulheres com faixa etária variando entre 30 a 50 anos, e declinando depois, dependendo do grau de desenvolvimento e atrofia do epitélio vaginal, coincidindo também com o fato destas mulheres se encontrarem ativas sexualmente^{1,10,13}.

CONCLUSÕES

De acordo com os dados relacionados concluímos que:

1) Observou-se uma maior incidência de vaginites específicas e inespecíficas em mulheres na faixa etária compreendida entre 40 e 49 anos.

2) Essas mulheres se apresentam mais susceptíveis às vaginites ocasionadas, principalmente, por flora mista (vaginites inespecíficas) e pela *Candida albicans* (dentre as vaginites específicas). Tal susceptibilidade se dá em decorrência, provavelmente, do declínio da função ovariana com um conseqüente déficit de estrogênio, seguido da diminuição da defesa do epitélio pavimentoso estratificado, coincidindo também com o fato destas mulheres ainda se encontrarem ativas sexualmente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ayala, M. J.; Ortiz, F. N. - *Citopatologia Ginecológica*. Ed. Artes Médicas, São Paulo-SP, cap. 2, p 423-38, 1978.
2. Barbosa, L. A. H. - *Obstetrícia Normal e Patológica*. Livraria Atheneu, São Paulo-SP, 323p, 1988.
3. Bastos, A. C. - *Noções de ginecologia*. 8ª ed. São Paulo-SP, Livraria Atheneu, cap. 3. 1991
4. Carvalho, G. - *Citologia do Trato Genital Feminino*. Editora Manole, São Paulo-SP, cap. 6. 1976.
5. Guyton, A. C. - *Fisiologia Humana*. 7ª ed. Rio de Janeiro-RJ. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro - RJ, 1985.
6. Halbe, H. W. - *Tratado de Ginecologia*. Editora Roca Anne Ltda., São Paulo-SP, 2ª ed., 366p, 1995.
7. Jones, H.; Wentz, C. and Burnett, L. - *Tratado de Ginecologia*. Editora Guanabara, Rio de Janeiro-RJ; 11ª edição, 1997.
8. Luca, L. A. - *Ginecologia: Semiologia Clínica e Laboratorial*. Editora Sarvier, São Paulo-SP, 1981.
9. Kistner, R. W. - *Ginecologia: princípios e práticas*. Editora Manole, 4ª edição. São Paulo-SP, 1989.
10. Neto V. A. and Baldy, J. L. S. - *Doenças Transmissíveis*. Editora Sarvier, 3ª edição. São Paulo-SP, 1989.
11. Passos, M. R. L. - *Doenças Sexualmente Transmissíveis*. Editora Cultura Médica, 4ª ed. Rio de Janeiro-RJ, 1995.
12. Adimora, A. A.; Hamilton, H.; Holmes, K.K. And Sparling, P.F. - *Doenças Sexualmente Transmissíveis*. Editora Andrei Ltda., São Paulo-SP, cap 18 e 19, 1998.
13. Delcroix, M. - *Infecções Ginecológicas*. Editora Andrei Ltda, São Paulo-SP, cap 5, 1998.

Endereço para correspondência
 Prof. Geraldo Barroso Cavalcanti Jr.
 Rua Domingos Ferreira, 221/505 - Copacabana
 22050-010 - Rio de Janeiro - RJ

PRÊMIO DOLES de Bioquímica Clínica

REGULAMENTO



I - DO PRÊMIO

- 1) O "Prêmio Doles de Bioquímica Clínica" é promovido pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas - SBAC, com o patrocínio da Doles Reagentes;
- 2) O Prêmio será no valor correspondente a 20(vinte) salários mínimos da data da outorga, além de diploma alusivo;
- 3) O Prêmio será entregue na solenidade programada pela SBAC nos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas - CBAC.

II - DOS OBJETIVOS

O "Prêmio Doles de Bioquímica Clínica" tem por objetivo:

- 1) Estimular o desenvolvimento de pesquisas na área de Bioquímica Clínica no País; e
- 2) Premiar o melhor trabalho apresentado na sessão de Temas Livres dos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas, com vistas à melhoria técnica do Laboratório Clínico.

III - DA PARTICIPAÇÃO

- 1) Poderão concorrer ao Prêmio, todos os trabalhos inscritos e apresentados na sessão de Temas Livres dos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas;
- 2) Para concorrer ao Prêmio, os autores deverão remeter à Secretaria da SBAC, até 45 dias antes do Congresso, 5 (cinco) cópias do trabalho original completo, atendendo às normas de publicação da Revista Brasileira de Análises Clínicas, contendo: introdução (com objetivo definido do trabalho) material e métodos, resultados, discussão, conclusão, bibliografia, resumo em português, summary em inglês, palavras chaves (uniterms) e key words (uniterms).
- 3) Os trabalhos concorrentes deverão ser escritos em português e serem originais, ainda não publicados nem comprometidos para publicação em qualquer Revista Científica da Especialidade;
- 4) O trabalho premiado será publicado, com exclusividade, na Revista Brasileira de Análises Clínicas e deverá ser obrigatoriamente apresentado pelo autor (ou autores) aos congressistas do CBAC em que foi premiado, em dia e hora determinados pela Comissão Julgadora do Prêmio e Comissão Organizadora do CBAC. Para isto, é necessário que o(s) autor(es) compareça(m) ao Congresso preparado(s) para fazer tal apresentação com slides, transparências e outros recursos que o(s) autor(es) julgar(em) pertinente(s);
- 5) Os demais trabalhos selecionados pela Comissão Julgadora ao "Prêmio Doles de Bioquímica Clínica", poderão ser publicados na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 6) O não atendimento aos itens 1 à 4 desqualifica o trabalho e/ou o recebimento do Prêmio.

IV - DA COMISSÃO JULGADORA

- 1) A Comissão Julgadora será composta de pelo menos 5 (cinco) membros nomeados pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, sendo um o Presidente;
- 2) A composição da Comissão Julgadora será divulgada pela SBAC nos Programas oficiais dos CBAC;
- 3) A Comissão Julgadora selecionará os 3 (três) melhores trabalhos apresentados, outorgando a um deles o "Prêmio Doles de Bioquímica Clínica", e aos outros 2 (dois), um diploma de Menção Honrosa;
- 4) A decisão da Comissão Julgadora é soberana e irrecorrível.

V - DISPOSIÇÕES GERAIS

- 1) O "Prêmio Doles de Bioquímica Clínica" é indivisível e será conferido a apenas um trabalho, ficando a inteiro critério dos autores seu eventual rateio;
- 2) O trabalho inscrito mas não apresentado na sessão de Temas Livres do Congresso, será desclassificado para concorrer ao "Prêmio Doles de Bioquímica Clínica";
- 3) O trabalho concorrente ao Prêmio, deve ser apresentado na sessão de Temas Livres obrigatoriamente por um dos autores regularmente inscrito no Congresso;
- 4) Os casos omissos serão resolvidos pela Diretoria da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, ouvida a Comissão Julgadora.

Rio de Janeiro, 28 de Janeiro de 1997.

Dr. Humberto Marques Tibúrcio
Presidente

Informações

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
Prêmio DOLES de Bioquímica Clínica

Rua Vicente Licínio, 95 • Rio de Janeiro • RJ • 20270-340

e-mail: congresso@sbac.org.br

Avaliação hormonal, bioquímica e citológica em mulheres com idade entre 40 e 55 anos, sem reposição hormonal, no interior de Pernambuco-Brasil*

Hormonal, biochemical and cytological evaluation of women between 40 and 55 years old, without hormonal replacement therapy, in the rural area of the state of Pernambuco-Brazil

Maria Teresa Janssem de Almeida Catanho¹; Carlos Eduardo de Queiroz Lima² & Jacinto da Costa Silva Neto³

RESUMO - O climatério é marcado por mudanças somáticas e psíquicas. Costuma iniciar numa faixa etária que vai de 40 a 55 anos de idade. Este estudo analisou cinquenta mulheres (n=50) que não faziam uso de reposição hormonal e medicação para cardiopatias, residentes no interior de Pernambuco-Brasil. Foram realizadas dosagens bioquímicas no sangue com os seguintes resultados: Glicose - 86,7% das mulheres eram normoglicêmicas e 13,3% hiperglicêmicas, com média de 102,43 mg/dl. Transaminase (TGP) com média de 16,38 unidade F.R./ml, 97,8% com níveis normais. O colesterol total apresentou média igual a 222,3 mg/dl. 77,8% das mulheres se apresentaram hipercolesterolêmicas. Na avaliação hormonal a dosagem de estradiol e progesterona foi realizada dividindo a amostra estudada em três grupos: A, B e C. O grupo A, formado por mulheres com ciclos menstruais normais (n=31), utilizado como controle, apresentou 90,32% com níveis normais de estradiol. O grupo B, composto por mulheres com ciclos irregulares (n=6), onde 100% das pacientes estavam dentro da normalidade para esta fase. O grupo C, representado por mulheres menopausadas (n=13), acima de doze meses de amenorréia. 69,23% apresentaram níveis dentro do esperado e 30,77% acima. A média do nível de estradiol foi 58,12 pg/ml (p<0,00174). Na determinação da progesterona, o grupo A obteve 100% das pacientes apresentando níveis dentro da normalidade. O grupo B também 100% dentro da normalidade. No grupo C, 84,62% estavam dentro da normalidade para a faixa etária e 15,38% com níveis acima do esperado. A média geral foi 4,11 ng/ml. Na citologia foram encontrados 68,9% dos esfregaços normotróficos, 24,4% hipotróficos e 6,7% são atróficos. As mulheres menopausadas apresentaram um grande percentual de normotrofismo apesar de mostrarem baixos os níveis de estradiol. Os níveis de progesterona sofreram um decréscimo significativo porém sem alterar o trofismo cérvico-vaginal, mostrando que não existe uma correlação direta. Os resultados sugerem que a reposição hormonal deve ser bastante criteriosa e estudada caso a caso, levando em grande consideração os níveis de estradiol e progesterona e o padrão de trofismo cérvico-vaginal.

UNITERMOS - Climatério, reposição hormonal, estradiol, progesterona, menopausa e trofismo.

SUMMARY - The climacteric is marked by somatic and psychic changes. It usually begins in an age group that goes from 40 to 55 years old. This study analyzed fifty women (n=50) that didn't use hormonal replacement and medication for cardiovascular disease, that live in Pernambuco-Brazil. Biochemical analysis were done in the blood with the following results: Glucose - 86.7% of the women were normal and 13.3% high, with an average of 102.43 mg/dl. Transaminase (TGP) with an average of 16.38 unit F.R. /ml, 97.8% with normal levels. The total cholesterol presented an average of 222.3 mg/dl. 77.8% of the women were hypercholesterolemic. In the hormonal evaluation the 17-beta-estradiol and progesterin analysis were done dividing the sample studied in three groups: A, B and C. The group A, formed by women with normal menstrual cycles (n=31), used as control, it presented 90.32% of the women with normal levels of 17-beta-estradiol. The group B, composed by women with irregular cycles (n=6), where 100% of the patients were in a normal condition. The group C, represented by menopausal women (n=13), more than twelve months with menstrual cycles. 69.23% presented levels as it was expected and 30.77% presented higher levels. The general average of the estradiol was 58.12 pg/ml. In the progesterin study the group A relates women with normal cycles (n=31), used a control, and 100% of the patients presenting normal levels. The group B with 100% of the patients were in a normal levels for this period. The group C with 84.62% of the patients presenting normal levels and 15.38% presented higher levels. The general average was 4.11 ng/ml. In the cytology 68.9% of normal trophic, 24.4% hypotrophics and 6.7% atrophics were what we found. The menopausal women presented a big percentage of normotrophic although they have showed lower levels of 17-beta-estradiol. The progesterin levels suffered a significant diminution without changing the vaginal trophic, showing that a direct correlation doesn't exist. The results suggest that the hormonal replacement should be very well done and studied case by case, taking in great consideration the estradiol and progesterin levels and the pattern of vaginal trophism.

KEY WORDS - Climacteric, hormonal replacement, estradiol, progesterin, menopause e trophism.

Recebido em 02/8/2000

Aprovado em 09/11/2000

*Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Centro de Ciências da Saúde/Departamento de Biofísica. Laboratórios Adolfo Lutz.

¹Doutora em Biofísica França e Professora do Laboratório de Biofísica Celular e Molecular do Departamento de Biofísica da Universidade Federal de Pernambuco, UFPE; ²Doutor em Patologia, Universidade de Medicina e Farmácia, Toyama-Japão e professor do Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE.

³Mestre em Biofísica, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Especialista em Citopatologia e Professor de Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Caruaru-Pernambuco, FOC.

INTRODUÇÃO

O climatério é para a mulher um período caracterizado por mudanças fisiológicas e psicológicas onde a sintomatologia muitas vezes é bem evidente. A menopausa é a irreversível cessação do ciclo reprodutivo feminino, na qual é seguida de perda permanente da resposta ovariana a gonadotrofinas. Esta alteração, geralmente, ocorre espontaneamente entre as idades de 40 a 55 anos na mulher com uma média aos 51 anos de idade¹.

As alterações hormonais levam, conseqüentemente, a problemas de saúde de grande importância para a vida da mulher. Os principais sintomas observados são: ondas de calor, suores noturnos, insônia, diminuição do desejo sexual, irritabilidade, depressão, ressecamento vaginal, dor durante o ato sexual, diminuição da atenção e memória. Isto se deve às variações por alguns hormônios, principalmente estrógenos, notadamente o 17-beta-estradiol. Portanto, em alguns casos, é necessário tentar imitar a natureza repondo os hormônios em falta.

Os estrogênios são os hormônios básicos das mulheres: sua produção se inicia na adolescência, quando é responsável pelo aparecimento dos sinais sexuais secundários na mulher, e vai até a chegada da menopausa.

Além dos sintomas originados pelo seu decréscimo, outros problemas como doenças cardiovasculares, obesidade, aumento do colesterol total e colesterol LDL e baixa do colesterol HDL, isquemia cardíaca, osteoporose, entre outros, são sem sombra de dúvida fatores decisivos, que levam a adoção de uma reposição hormonal².

A medicina, no intuito de minimizar os problemas causados pela falência estrogênica, criou a terapia de reposição hormonal. Nem sempre essa terapêutica tem benefícios superiores aos riscos iatrogênicos potenciais.

Vários estudos relacionam os níveis estrogênicos e a duração da terapêutica com alta incidência de patologias imediatas e tardias.

O uso isolado de hormônios estrogênicos, principalmente o estradiol, pode causar uma incidência de câncer de mama³ com aumento em até 40% com relação às mulheres que não fazem terapia de reposição estrogênica⁴.

É importante salientar que se têm realizado trabalhos onde foram observados duplicação do número de óbitos por câncer de endométrio após 25 anos do início do uso da reposição estrogênica⁵, levando à conclusão que o uso continuado, por um longo período (a partir de cinco anos) estaria relacionado ao surgimento de cânceres.

A reposição hormonal é, sem dúvida, uma terapêutica importante devido à cessação imediata dos sintomas vasomotores, sendo também importante na prevenção de doenças cardíacas, câncer de endométrio e mama, por exemplo⁶.

De acordo com a fase da vida da mulher, o epitélio vaginal sofre mudanças estruturais na sua apresenta-

ção, mostrando características próprias de cada fase, necessitando assim, criar padrões de trofismo para classificar o epitélio. A citologia, geralmente na faixa etária de 40 a 55 anos, se apresenta de hipotrófica a atrófica, devido aos baixos níveis de estrógenos circulantes. Problemas ocorridos como dor durante o ato sexual e ressecamento vaginal, são particularmente beneficiados com a adoção de uma terapia de reposição estrogênica.

Porém, não basta uma simples análise superficial para adoção desta terapêutica, outros parâmetros também são importantes, tais como: avaliação hormonal, bioquímica, citológica e clínica, que juntos descrevem o estado da paciente e a real necessidade do procedimento.

As vantagens da hormonioterapia no climatério sintomático não deixam dúvidas, já que está bem estabelecida a ação benéfica do estrógeno na correção de sintomas vasomotores, atrofia vaginal e mudanças psicológicas. A controvérsia surge no momento da realização do tratamento a longo prazo em mulheres assintomáticas^{7,8}, que podem passar a apresentar efeitos colaterais que diminuem o emprego da terapia hormonal. Estes efeitos ocorrem em 5% a 10% das pacientes submetidas à reposição combinada, e incluem o sangramento de supressão, edema, depressão, dismenorréia, mastalgia, cefaléia e distúrbios gastrointestinais⁷, sintomas estes que podem ser controlados ajustando-se a dose ou substituindo o tipo de estrógeno ou progesterona^{9,10}. O suposto desenvolvimento de câncer é outro fator que limita o emprego da hormonioterapia¹¹, assim como trombose venosa¹².

A maior parte dos autores já considera, além dos sintomas atrofícos, a profilaxia e tratamento da osteoporose, a prevenção da doença cardiovascular, da doença de Alzheimer, reduzindo, inclusive, tais incidências em até 50% das mulheres nesta fase¹³ e funcionam como sendo indicações para reposição hormonal⁸.

O *Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer*, 1997¹² realizou um estudo epidemiológico, levando em consideração o tipo de hormônio usado e o risco de câncer de mama, onde se observou um aumento do risco em 53% para a terapia combinada (estrógenos+progestinas) e 34% para o uso de estrógenos isolados.

Colditz; Rosner, 1998¹⁴, mostram que para cada ano de uso da TRH combinada o risco de câncer de mama aumenta 9,0% e 3,3% para TRH somente com o estrógeno.

Persson e cols., 1999¹⁵, similarmente analisou o aumento do risco de câncer de mama relacionando-o ao esquema terapêutico para 6 anos ou mais de uso continuado e 70% para TRH combinada, enquanto que o uso isolado de estrógeno não aumentou.

Catharine e cols., 2000¹⁶, utilizando-se de dados de 46.000 mulheres que participaram de um projeto para a detecção do câncer de mama, associando a TRH e o risco, detectou 2.082 casos de câncer de mama. Os autores acharam que a administração de estrógeno mais progestinas estava associado com um grande

aumento de câncer de mama em relação ao estrógeno somente. O risco aumenta 8% para cada ano de uso combinado e de 1% para o uso isolado de estrógeno, levando a supor que o risco é de aproximadamente 80% a partir de 10 anos e 160% a partir de 20 anos.

Considerando o risco-benefício, algumas considerações são importantes no que diz respeito ao risco de fraturas na bacia e doenças coronarianas, primeiros alvos na prevenção pelo uso da TRH, fatores que ocorrem na menopausa.

Portanto, a decisão do uso da TRH na menopausa deve ser criteriosa, avaliando-se os seus riscos e benefícios.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os pacientes foram escolhidos aleatoriamente em uma unidade de saúde (Unidade Mista Nossa Senhora de Fátima-Panelas, Pernambuco, Brasil) formando um universo de 100 mulheres. Posteriormente, houve uma triagem de 50 pacientes obedecendo aos requisitos necessários, selecionadas pela clínica ginecológica do referido hospital, na qual foi realizada uma anamnese para a adequação das pacientes ao projeto de pesquisa, ou seja, mulheres com idade entre 40 a 55 anos, não fazendo uso de medicação para cardiopatias e terapia de reposição hormonal. Depois de triadas, as pacientes foram consultadas se desejariam participar do projeto, preenchendo o formulário próprio. Após serem selecionadas, foi colhido sangue e material para exame citológico.

O estudo foi realizado com pacientes residentes na zona rural e urbana no interior de Pernambuco-Brasil. Para a confirmação da idade, foi exigida a identidade ou o registro de nascimento.

Foi coletado 10ml de sangue total através de punção venosa periférica, veias mediana ou cefálica ou radial, de pacientes em jejum de 12 horas utilizando para isso tubos a vácuo do Sistema "Vacutainer".

Fazendo uso de espéculo descartável, espátula de Ayre e escova para citologia ginecológica, foi coletado material cérvico-vaginal das pacientes selecionadas. As amostras foram colocadas em lâminas de vidro e fixadas com fixador citológico para posterior coloração pela técnica de Papanicolaou.

Na determinação da glicemia, transaminase e colesterolemia foram utilizadas técnicas enzimáticas para a sua determinação. A análise quantitativa do estradiol e progesterona foi feita por radioimunoensaio.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

As 50 pacientes estudadas tinham idade variando entre 40 e 55 anos e a média de idade foi de 48,44 anos, onde a mais freqüente foi 52 anos.

Dentre o universo estudado dividimos em três grupos:

- **Grupo das mulheres com ciclos menstruais normais:** mulheres que menstruavam periodicamente (mensalmente) sem alterações, representando 62% do contingente (n=31). Média de idade: 49,29 anos.

- **Grupo das mulheres com ciclos menstruais irregulares:** mulheres que apresentaram dismenorréias a partir de um mês, representando 12% do contingente (n=6). Média de idade: 51,83 anos.

- **Grupo das mulheres menopausadas:** mulheres que apresentaram amenorréias a partir de 12 meses representando 26% do contingente (n=13). Média de idade: 52 anos.

Avaliação dos níveis de glicemia

Os resultados deste trabalho mostraram um percentual de 86,7% das mulheres com os níveis glicêmicos normais e 13,3% com hiperglicemia, determinando portanto, uma maioria de pacientes normoglicêmicas. Sua média foi de 102,43 mg/dl.

Avaliação dos níveis de colesterolmia

O resultado mostrou que os níveis de colesterol apresentou percentual de 77,8% das mulheres hipercolesterolêmicas e apenas 22,2% apresentaram níveis dentro da margem de segurança (<200 mg/dl).

A média de colesterol total encontrado foi de 222,3 mg/dl.

Avaliação dos níveis plasmáticos da Transaminase Glutâmico-Pirúvica (TGP)

Os resultados deste estudo revelaram que 97,8% das pacientes apresentam níveis normais de TGP no sangue e apenas 2,2% apresentaram níveis elevados, levando a acreditar que elas apresentaram, em sua maioria, uma integridade hepática funcional confiável. Sua média foi de 16,38 un.F.R./ml.

Portanto, as pacientes estudadas apresentaram em sua maioria, níveis plasmáticos de glicose, TGP normais e colesterol total aumentado (hipercolesterolemia) em praticamente todas.

Avaliação citológica das pacientes

Em 68,9% dos esfregaços, estes se apresentaram com padrão normotrófico, isto é, com trofismo cérvico-vaginal normal. O hipotrofismo apareceu em 24,4% dos casos, ou seja, revelando um discreto amadurecimento do epitélio, enquanto 6,7% dos esfregaços foram do tipo atrófico, sem amadurecimento normal do epitélio.

Isso mostra a predominância do normotrofismo, mesmo estando, as mulheres examinadas, na faixa climática a menopausal.

Avaliação dos níveis plasmáticos de estradiol

O grupo em estudo, com 50 pacientes (n=50), foi dividido em três grupos:

- **Grupo A:** representado pelas mulheres que apresentavam ciclos menstruais normais. Este grupo continha 31 mulheres (n=31) formando um percentual de 62% do contingente. Os valores de referência situavam-se entre 10 a 375 pg/ml. Como resultado, observamos que 90,32% das pacientes apresentaram níveis séricos normais, em 6,45% apresentavam-se com níveis estrogênicos acima do esperado e 3,23% com níveis abaixo do esperado.

• **Grupo B:** representado por mulheres com ciclos irregulares (n=6) variando de 1 a 11 meses de dismenorréia, representando 12% do universo analisado. O valor de referência situa-se entre 10 a 375 pg/ml. O resultado obtido, 100%, revelou que as pacientes estariam dentro dos valores esperados.

• **Grupo C:** representado por mulheres menopausadas (n=13), ou seja, acima de 1 ano de amenorréia, constituindo 26% da amostra total. Os valores de referência situam-se entre 0-14 pg/ml. Apresentaram níveis dentro do esperado, 69,23% e 30,77% com níveis acima do esperado.

De um modo geral, a média de estradiol plasmático foi 58,12 pg/ml ($p < 0,00174$).

Avaliação dos níveis plasmáticos de progesterona

• **Grupo A:** relaciona mulheres que apresentam o ciclo menstrual normal constando de 31 mulheres (n=31), ou seja, 62% do total. Para esse intervalo, os valores de referência são: 0,15 a 23 ng/ml. Os resultados obtidos mostram que 100% das pacientes apresentavam níveis normais esperados.

• **Grupo B:** constituído de mulheres com ciclos irregulares (n=6) representando 12% do total analisado. Os valores de referência se situavam no período entre 0,15 a 23 ng/ml. Estavam dentro dos valores esperados (100%) nesse grupo.

• **Grupo C:** constituído de mulheres menopausadas (n=13) representando 26% do total analisado. Os valores de referência se situavam no período entre 0,11 a 0,90 ng/ml. Estavam dentro dos valores esperados 84,62% e 15,38% com valores acima do esperado.

De uma forma geral, a progesterona apresentou uma média de 4,11 ng/ml ($p < 0,000123$).

Estudo comparativo dos níveis de estradiol, progesterona e padrões de atrofia cérvico-vaginal

De acordo com a Tabela I, foi observado uma diminuição nos níveis séricos de estradiol se comparado com os níveis plasmáticos das mulheres normocíclicas. Apesar de seus níveis sofrerem uma diminuição, o normotrofismo representa quase que a metade, esta-

TABELA I
Valores dos níveis de estradiol em pg/ml

	Geral	Normocíclicas	Ciclos irregulares	Menopausadas
Média	58,12	79,65	45,59	12,66
Valor máximo	325,77	325,77	183,58	32,72
Valor mínimo	2,12	3,46	11	2,12

TABELA II
Valores dos níveis de progesterona em ng/ml

	Geral	Normocíclicas	Ciclos irregulares	Menopausadas
Média	4,11	6,08	1,58	0,60
Valor máximo	21,69	21,69	4,89	1,27
Valor mínimo	0,27	0,33	0,32	0,27

TABELA III
Valores dos níveis de progesterona em ng/ml

	Mulheres normocíclicas	Mulheres com ciclos irregulares	Mulheres menopausadas
Normotróficas	90,30%	50%	38,46%
Hipotróficas	9,70%	50%	38,46%
Atróficas	0%	0%	23,08%
Hipertróficas	0%	0%	0%

GRÁFICO 1
Trofismo cérvico-vaginal em mulheres com ciclos menstruais normais



GRÁFICO 2
Trofismo cérvico-vaginal em mulheres com ciclos irregulares

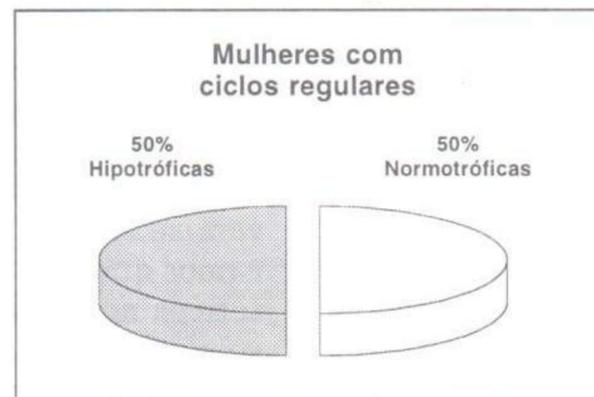
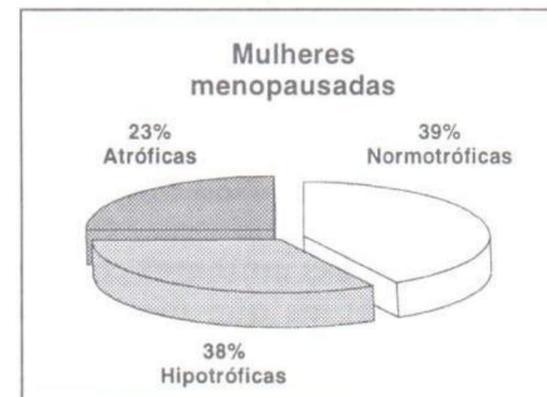


GRÁFICO 3
Trofismo cérvico-vaginal em mulheres menopausadas



belecendo que a média dos níveis plasmáticos não está muito abaixo da exigida para se manter normotrófica.

Com estes dados conclui-se que, citologicamente os problemas causados pela atrofia do epitélio vaginal são de pequena importância, haja visto que no conteúdo geral, seu percentual é muito baixo entre as mulheres menopausadas.

Na Tabela II pode-se observar uma queda significativa dos níveis de progesterona no sentido das mulheres com ciclos menstruais normais a mulheres menopausadas, como também as concentrações máximas.

CONCLUSÕES

As mulheres analisadas apresentavam níveis normais de glicemia e transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) com aumento dos níveis séricos de colesterol total (hipercolesterolemia).

O nível de estradiol sofreu um declínio quando comparado o grupo de mulheres normocíclicas com as menopausadas. A progesterona também sofreu declínio, sendo que esta teve uma diminuição bem mais significativa.

As mulheres menopausadas apresentaram um grande percentual de normotrofismo apesar de sua diminuição no que se refere aos níveis de estradiol, e um percentual pequeno de mulheres com padrões atróficos, sugerindo que nem sempre existe uma relação proporcional do trofismo cérvico-vaginal e os níveis estrogênicos nesta faixa etária. Apesar dos níveis estrogênicos se reduzirem, o epitélio continua a se renovar.

A progesterona sofreu um decréscimo significativo, porém, o trofismo cérvico-vaginal não sofreu uma queda correspondente, mostrando que não existe uma correlação direta entre ambos.

A faixa etária estudada mostra, de uma forma geral, um leve decréscimo nos padrões de trofismo cérvico-vaginal porém, em sua maioria, permanecem normotróficos, com o nível sérico de estradiol sofrendo uma diminuição moderada e a progesterona, uma queda acentuada. As mulheres com perfil citológico atrófico formam um pequeno e restrito grupo.

Portanto, a terapia de reposição hormonal deve ser bastante criteriosa e estudada individualmente, levando-se em consideração os níveis metabólicos de estra-

diol, progesterona e o trofismo cérvico-vaginal. Grande parte das mulheres na faixa etária entre 40 e 55 anos nem sempre devem fazer uso da terapia de reposição hormonal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dania, C.; Rodolfo, S.: Aspectos endocrinológicos do climatério e suas principais implicações terapêuticas. *RBM-Ginecologia e Obstetrícia*, Vol. V, Nº 03, Jun-1994.
2. Colombel, A.; Charbonnel, B.: Weight gain and cardiovascular risk factors in the post-menopausal women. *Hum Reprod*, Oct 12 Suppl1: 134-45, 1997.
3. Talamini R.; Franceschi, S.; et col.: Selected medical conditions and risk of breast cancer. *Br. J. Cancer*, 75:11, 1699-703, 1997.
4. Schairer, C.; Adami, H.O.; Hoover, R.; Person, I.: Cause-specific mortality in women receiving hormone replacement therapy. *Epidemiology*, Jan, 8:1, 59-65, 1997.
5. Rinaldi, J. F.; et col.: Fatores de risco clínicos para câncer de mama. *Rev. Bras. Med. - GO - Vol. IV*, Nº 1, Fev, 1996.
6. Kara, L. C.; Noel, S. W.; Lynda, F. V.; Barbara, M.; Shirley, A. A. B.: Risk of endometrial cancer in relation to use of low-dose unopposed estrogens. *Obstetrics & Gynecology*. Vol. 91, No. 1, Jan: 35-39, 1998.
7. Hanh, R. G.: Compliance considerations with estrogen replacement: withdrawal bleeding and other factors. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 161: 1854-8, 1989.
8. Notelovitz, M.: Estrogen replacement therapy: indications, contraindications and agent selection. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 161: 1832-41, 1989.
9. Gambrell, R. D.: Clinical use of progestins in the menopausal patient. *J. Reprod. Med.* 27: 531-8, 1982.
10. Magos, A. L.; Brincot, M.; Studd, W. W.: Amenorrhea and endometrial atrophy with continuous oral estrogen therapy in postmenopausal women. *Obst. Gynecol.* 65: 496-9, 1985.
11. Ravnkar, V. A.: Compliance with hormone therapy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 156: 1332-4, 1987.
12. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer.: Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiologic studies of 52.705 women with breast cancer and 108.411 women without breast cancer. *Lancet*.; 350: 1047-1059, 1997.
13. Prelevic, G. M.; Jacobs, H. S.: Menopause and post-menopause. *Baillieres Clin. Endocrinol. Metab. Jun.*; 11(2): 311-40, 1997.
14. Colditz, G. A.; Rosner, B., For the nurses' health study research group.: use of estrogen plus progestin is associated with greater increase in breast cancer risk than estrogen alone. *Am. J. Epidemiol.*; 147 (suppl): 64S, 1998.
15. Persson, I.; Weiderpass, E.; Bergkvist, L.; Bergstrom, R.; Schairer C.: Risks of breast and endometrial cancer after estrogen-progestin replacement. *Cancer Causes Control.* 10: 253-260, 1999.
16. Catherine, S.; Jay, L.; Rebecca, T.; Susan, S.; Louise, B.; Robert, H.: Menopausal estrogen and estrogen-progestin replacement therapy and breast cancer risk. *JAMA*, Vol. 283, Nº 4 - Jan, 26, 2000.

Endereço para correspondência

Prof. Jacinto da Costa Silva Neto

Rua Gal. Americano Freire, 562, Apto. 1402 - Boa Viagem

Recife-PE Cep: 51.020-020

e-mail: jcosta@bluenet.com.br

XXVIII Congresso Brasileiro de Análises Clínicas

XV Congresso Latinoamericano de Bioquímica Clínica

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

Rua Vicente Licínio, 95 - Rio de Janeiro - RJ - 20270-902

Tel. (0xx21)234-4881 • Fax (0xx21)234-2053

www.cbac.org.br

1 a 5 de julho de 2001
Florianópolis
SC

PRÊMIO BIOSYSTEMS

REGULAMENTO



I - DO PRÊMIO

- 1) O "Prêmio Biosystems" é promovido pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, com o patrocínio da Biosystems do Brasil;
- 2) O Prêmio será no valor correspondente a R\$ 1.500,00 (mil e quinhentos reais) na data do Congresso, além de diploma alusivo;
- 3) O Prêmio será entregue durante os Congressos Brasileiros de Análises Clínicas.

II - DOS OBJETIVOS

O "Prêmio Biosystems" tem por objetivo:

- 1) Estimular o desenvolvimento de pesquisas na área de Análises Clínicas no País; e
- 2) Premiar o melhor trabalho de Tema Livre apresentado nos Congressos Brasileiros Análises Clínicas, sobre diabetes.

III - DA PARTICIPAÇÃO

- 1) Poderão concorrer ao Prêmio, todos os trabalhos inscritos e apresentados na sessão de Temas Livres dos Congressos Brasileiros de Análises Clínicas;
- 2) Para concorrer ao "Prêmio Biosystems", os autores deverão remeter à Secretaria da SBAC, até 45 dias antes do Congresso, 5 (cinco) cópias do trabalho original completo, atendendo às normas de publicação da Revista Brasileira de Análises Clínicas, contendo: introdução (com objetivo definido do trabalho) material e métodos, resultados, discussão, conclusão, bibliografia, resumo em português, *summary* em inglês, palavras chaves (unitermos) e *key words* (*uniterms*).
- 3) Os trabalhos concorrentes deverão ser escritos em português e serem originais, ainda não publicados nem comprometidos para publicação em qualquer Revista Científica da Especialidade;
- 4) O trabalho premiado será publicado com exclusividade na Revista Brasileira de Análises Clínicas e deverá ser obrigatoriamente apresentado pelo autor (ou autores) aos congressistas do CBAC em que foi premiado, em dia e hora determinados pela Comissão Julgadora do Prêmio e Comissão Organizadora do CBAC. Para isto, é necessário que o(s) autor(es) compareça(m) ao Congresso preparado(s) para fazer tal apresentação com slides, transparências e outros recursos que o(s) autor(es) julgar(em) pertinente(s);
- 5) Os demais trabalhos selecionados pela Comissão Julgadora ao Prêmio Biosystems, poderão ser publicados na Revista Brasileira de Análises Clínicas;
- 6) O não atendimento aos itens 1 à 4 desqualifica o trabalho e/ou o recebimento do Prêmio.

IV - DA COMISSÃO JULGADORA

- 1) A Comissão Julgadora será composta de pelo menos 5 (cinco) membros nomeados pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, sendo um o Presidente;
- 2) A composição da Comissão Julgadora será escolhida antecipadamente e publicada no programa oficial do Congresso;
- 3) A Comissão Julgadora selecionará os 3 (três) melhores trabalhos apresentados, outorgando a um deles o "Prêmio Biosystems", e aos outros 2 (dois), um diploma de Menção Honrosa;
- 4) A Comissão Julgadora anunciará a sua decisão final após avaliar todos os trabalhos apresentados;
- 5) A decisão da Comissão Julgadora é soberana e irrecorrível.

V - DISPOSIÇÕES GERAIS

- 1) O Prêmio é indivisível e será conferido a apenas um trabalho, ficando a inteiro critério dos autores seu eventual rateio;
- 2) O trabalho enviado para concorrer ao "Prêmio Biosystems" que não for apresentado na sessão de Temas Livres do Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, será desclassificado;
- 3) O trabalho concorrente ao prêmio deve ser apresentado na sessão de Temas Livres obrigatoriamente por um dos autores do trabalho regularmente inscrito no Congresso;
- 4) Os casos omissos serão resolvidos pela Diretoria da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, ouvida a Comissão Julgadora.

Rio de Janeiro, 26 de Janeiro de 1996.

Dr. Humberto Marques Tibúrcio
Presidente

Informações

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
Prêmio BIOSYSTEMS

Rua Vicente Licínio, 95 • Rio de Janeiro • RJ • 20270-340

e-mail: congresso@sbac.org.br

Isolamento de amostras multirresistentes de *Staphylococcus aureus* em estetoscópios usados no ambiente hospitalar*

Staphylococcus aureus multi-resistant strains' isolation from stethoscopes used in nosocomial environment

Bismark Azevedo Cruz de Araujo¹, Alessandra Lages de Oliveira¹ & Lauro Santos Filho²

RESUMO - O estetoscópio pode ser considerado o instrumento de trabalho mais utilizado na atividade diária dos médicos e pessoal hospitalar. No entanto, pouca atenção tem sido dispensada aos cuidados básicos no seu manuseio, principalmente, no que se relaciona aos cuidados primários de limpeza e desinfecção. Até o momento, não existem procedimentos bacteriológicos padronizados para investigar a presença de bactérias em tais instrumentos. Deste modo, a partir de técnicas simples, nosso objetivo foi determinar o nível de contaminação de estetoscópios analisados aleatoriamente em algumas clínicas do hospital a partir de uma situação não epidêmica. Foi estudado um total de 98 estetoscópios utilizados em quatro hospitais com diferentes características na cidade de João Pessoa/PB. A coleta do material foi realizada, passando-se, vigorosamente, um "swab" no diafragma dos estetoscópios. A amostra foi subcultivada por plaqueamento nos meios de Agar Mueller-Hinton (BBL) acrescido de 5% de sangue desfibrinado de carneiro e Agar Manitol Salgado (BBL), e incubados durante 24h a 35°C, para verificação de crescimento bacteriano. O crescimento foi caracterizado pela intensidade do desenvolvimento de colônias, procedendo-se então a identificação das bactérias a partir de características de crescimento e utilização de técnicas padronizadas de rotina. Os testes de sensibilidade foram determinados pelo método da difusão com discos de acordo com recomendações do NCCLS, utilizando-se bateria padrão de drogas. Foram isoladas 96 amostras bacterianas sendo 19/96 (19,8%) *Staphylococcus aureus*, 72/96 (75,0%) *Staphylococcus epidermidis* e 05/96 (5,2%) de outras espécies, em alguns casos houve a associação das duas bactérias em uma única amostra coletada. No entanto, o achado mais interessante foi que, entre as amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas, houve a detecção de 05/19 (26,3%) de linhagens resistentes à meticilina (MRSA). Este fato caracteriza o potencial de ocorrência de infecção cruzada e disseminação de amostras multirresistentes no ambiente hospitalar, havendo a necessidade da adoção de medidas de descontaminação periódica e rotineira dos estetoscópios.

UNITERMOS - *Staphylococcus aureus*, estetoscópios, hospital

ABSTRACT - The stethoscopes are routine part of daily activities of physicians, nurses and house staff of the hospital and certainly is the most used instrument. In despite of this fact, few attention was made to the basic care with their cleaning and disinfection. In other hand these instruments are not considered an important source of cross-infection among patients. The aim of the present study was to evaluate and confirm the contamination level on the diaphragm of stethoscopes. It was studied 98 stethoscopes selected among the medical wards at different hospitals in João Pessoa, capital of Paraíba state/Brazil. All samples were collected during a non epidemic situation and the surfaces of the diaphragms were rubbed with a swab previously wet in brain heart infusion (BHI), incubated overnight in the same medium, and subcultured onto agar M.Hinton with 5% sheep blood and manitol salt agar. The isolate strains were identified as *Staphylococcus aureus* by standard tests and confirmed by specific serology. The resistance to oxacillin was realized by agar diffusion procedure and the minimum inhibitory concentrations (MIC) were determined by E-test[®]. Was detected 96 bacterial isolates and among them 19.8% were identified as *S. aureus* with 26.3% of MRSA strains. The presence of these pathogenic strains demonstrate a potential occurrence of cross-infection caused by this important bacteria. The results suggest a strong recommendation for a periodic cleaning of the stethoscopes to prevent the spread of resistant strains in the hospitalar environment.

KEY WORDS - *Staphylococcus aureus*, Stethoscopes, Hospital

INTRODUÇÃO

A infecção adquirida durante a hospitalização e que não estava presente, ou em período de incuba-

ção, por ocasião da admissão do paciente é chamada de Infecção Hospitalar (IH), geralmente, são aquelas que aparecem após 48 a 72 horas da internação. São importantes causas de morbidade e mortalidade no

Recebido em 27/7/2000
Aprovado em 21/8/2000

*Trabalho realizado no Laboratório de Microbiologia do Núcleo de Medicina Tropical / UFPB.

¹Aluno do Curso de Farmácia e Bioquímica / Habilitação Análises Clínicas / Departamento de Ciências Farmacêuticas / CCS / Universidade Federal da Paraíba.

²Doutor em Microbiologia. Professor Adjunto de Microbiologia Clínica do DCF/CCS/UFPB.

Brasil, de modo que o impacto sócio-econômico causado pelo prolongamento da hospitalização, mortalidade e custos destas infecções, é muito alto, tanto para o paciente como para os órgãos financiadores da assistência médica (MS, 1992; Medeiros & Wey, 1998).

Um paciente pode ser colonizado com microrganismos hospitalares, que podem também ser transmitidos e disseminados no ambiente hospitalar. As mãos dos profissionais de saúde, que se contaminam durante o exercício profissional, assumem grande importância na transmissão de patógenos, devendo ser lavadas após cada atividade que envolva contato com estes materiais biológicos e na realização de procedimentos invasivos. Os artigos e fômites também podem se contaminar desta maneira, devendo ser reprocessados após cada uso, de acordo com o risco de transmissão que eles apresentem (Fernandes, *et al.*, 1999).

Apesar de muitos pacientes não estarem propensos a uma infecção após contato com estetoscópio contaminado, há de se considerar que pacientes imunodeprimidos, neonatos, traqueostomizados, doentes renais e queimados podem ser colonizados e desenvolver a infecção mais tarde (James *et al.*, 1995; Bioschi *et al.*, 1999).

No Brasil, apenas na última década este importante tema tem sido abordado de maneira mais efetiva e científica. O Ministério da Saúde, em 24 de junho de 1983, instituiu a Portaria MS/196, que determina que: "todos os hospitais do país deverão manter Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) independente da entidade mantenedora" (MS/1983). Embora com uma série de conceitos polêmicos e imprecisos essa portaria foi um passo importante na constituição de CCIHs por todo país (Medeiros & Wey 1998).

Em todo o Brasil, *Staphylococcus aureus* é o principal agente etiológico das infecções hospitalares, até mesmo em algumas unidades neonatais de terapia intensiva, com elevados percentuais de resistência. O principal reservatório de *Staphylococcus aureus* na natureza é o ser humano. Admite-se que 70 % da população carrega esta bactéria em seu vestíbulo nasal, em algum momento da vida, a maioria, com pequena quantidade de colônias. Porém, cerca de 15% dos indivíduos normais, sem doenças de base, e sem relação com ambiente hospitalar, carregam igualmente grande número de *Staphylococcus aureus* como parte da microbiota nasal. Não são conhecidos os fatores que determinam que alguns indivíduos sejam pesadamente colonizados, enquanto outros não o sejam. (Sader *et al.*, 1993; Boyce *et al.*, 1994).

René T. H. Laennec (1781-1826), foi o criador do estetoscópio, transformado em um dos mais úteis instrumentos para a prática clínica, inicialmente, era um cilindro de papel enrolado e, posteriormente, de madeira, utilizado com finalidade de ausculta e com grande importância para a atividade rotineira dos clínicos. No entanto foi o Dr. Cammann, em Nova York, quem desenvolveu o estetoscópio com duas entradas acústi-

cas, como permanece até nossos dias com algum aperfeiçoamento (Rodrigues, 1997).

O estetoscópio pode ser considerado o instrumento de trabalho mais utilizado na atividade diária do médico e pessoal hospitalar, no entanto, pouca atenção tem sido dispensada aos cuidados básicos no manuseio e manutenção desse equipamento, principalmente no que se relaciona aos cuidados primários de limpeza e desinfecção, o que até o momento não constitui uma rotina na maioria das instituições.

Apesar de alguns estudos demonstrarem que grande percentual dos estetoscópios apresentam contaminação bacteriana, não existem registros estatísticos que confirmem este instrumento como uma importante fonte de infecção cruzada (Dias *et al.*, 1997; Marinella *et al.*, 1997). Por outro lado, ainda não existe uma metodologia padronizada para aferir o nível de contaminação microbiana desses instrumentos.

Alguns autores consideram uma medida adequada a limpeza regular da campânula e diafragma do estetoscópio com álcool à 70 %, apesar de soluções de clorhexidina e álcool isopropílico serem consideradas efetivas na redução do número de contaminantes (Gerken *et al.*, 1972; Breathnach *et al.*, 1992).

O presente estudo foi realizado com os objetivos de: determinar a presença de contaminação bacteriana em estetoscópios utilizados na rotina de atendimento clínico, identificar as bactérias isoladas valorizando a presença de amostras multirresistentes de *Staphylococcus aureus* e propor medidas de descontaminação periódica dos estetoscópios por parte dos seus usuários.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Foi realizada uma amostragem em 98 estetoscópios utilizados por profissionais desempenhando suas funções nas diversas clínicas de quatro hospitais da cidade de João Pessoa, apresentando características próprias:

- Hospital Universitário "Lauro Wanderley", considerado de referência estadual, é um hospital terciário ligado a atividades de ensino, pesquisa e extensão, funcionando com 240 leitos, situado no Campus I da Universidade Federal da Paraíba, em João Pessoa/PB;
- Hospital público filantrópico, especializado em Oncologia com atendimento de um tipo específico de clientela, funcionando com 126 leitos;
- Hospital especializado em Cardiologia, funcionando com 78 leitos;
- Hospital geral com 154 leitos, com atendimento ligado ao SUS e, que constitui ainda uma das opções como hospital de urgência.

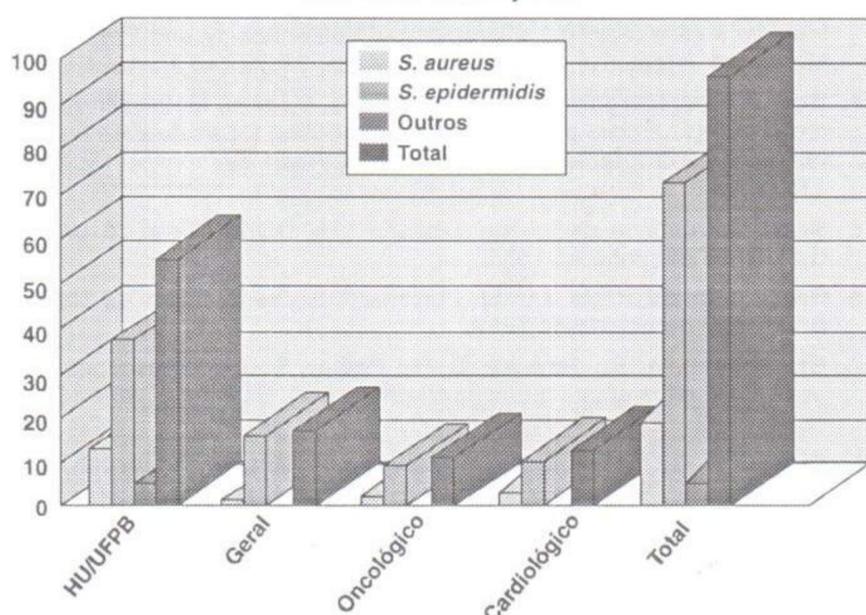
Métodos

A) Coleta e Cultivo de Amostras - A Coleta do material para exame microbiológico realizou-se no local

TABELA I
Amostragem de número de estetoscópios e número de bactérias encontradas em relação aos hospitais

Hospitais pesquisados	Estetoscópios		Bactérias encontradas	
	Nº	%	Nº	%
Hospital Universitário	53	(54,1 %)	55	(57,3 %)
Hospital Geral	17	(17,3 %)	17	(17,7%)
Hospital Oncológico	14	(14,3 %)	11	(11,5 %)
Hospital Cardiológico	14	(14,3 %)	13	(13,5 %)
Total	98	100 %	96	100 %

GRÁFICO 1
Bactérias isoladas a partir de amostragem em estetoscópios



de trabalho de cada profissional passando-se vigorosamente um "Swab" previamente embebido no meio de Caldo Muller-Hinton (Oxoid), no diafragma dos estetoscópios. Após enriquecimento preliminar, as amostras foram subcultivadas por plaqueamento nos meios de Agar Muller-Hinton (Oxoid) acrescido de 5% de sangue desfibrinado de carneiro e Agar Manitol Salgado (Oxoid), e incubados durante 24h à 35°C, para verificação de crescimento bacteriano (Boyce, 1991).

B) Identificação Bacteriana – utilizou-se características de crescimento, tipos de colônias e aspecto do meio de cultura, complementado pela utilização de técnicas padronizadas de rotina. Para a identificação de amostras de *Staphylococcus aureus* foram utilizados os testes de catalase, coagulase e DNase, confirmados por teste sorológico específico (Staphaurex/Murex Biotech Limited, UK)

C) Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos - Os testes de sensibilidade foram determinados pelo método da difusão em discos, a partir das amostras identificadas, de acordo com as recomendações do NCCLS (1993), utilizando-se bateria padronizada de drogas constando dos seguintes antimicrobianos: Amoxicilina/Ac.Clavulânico, Ciprofloxacina, Claritromicina, Ampicilina/Sulbactam Oxacilina e Vancomicina (CECON).

As amostras de *Staphylococcus aureus* caracterizadas como Meticilina Resistente (MRSA) tiveram essa característica confirmada pelo método de E Test® (AB

TABELA II
Valores quantitativos e percentuais das bactérias isoladas a partir da amostragem em estetoscópios

Hospitais pesquisados	<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>		Outros		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Hospital Universitário	13	68,4	37	51,4	05	100	55	57,3
Hospital Geral	01	5,2	16	22,2	--	--	17	17,7
Hospital Oncológico	02	10,5	09	12,6	--	--	11	11,4
Hospital Cardiológico	03	15,8	10	13,8	--	--	13	13,6
Total	19	(19,8%)	72	(75,0%)	05	(5,2%)	96	(100%)

Biodisk, Suécia), uma técnica que consiste em uma modificação dos métodos de difusão com discos e diluição em agar, superando as principais desvantagens desses métodos e mantendo as características mais importantes de ambos, fornecendo uma escala mais abrangente que aquela produzida tanto pela microdiluição em placa quanto pelos métodos automatizados (Santos Fº *et al.* 1995; Bolmstrom *et al.*, 1988).

RESULTADOS

A partir da investigação microbiológica traçada pelo trabalho, encontrou-se uma positividade igual a 97,9%, isto é, dos 98 estetoscópios pesquisados, 96 estavam contaminados, por algum agente microbiano.

A Tabela I traduz a classificação geral dos hospitais, no que tange a porcentagem, em relação ao número total de bactérias encontradas, assim temos: HULW-UFPA com 55/96 (57,3%) do total, seguido pelo Hospital Geral 17/96 (17,7%), Hospital Cardiológico 13/96 (13,5%) e por último, o Hospital Oncológico 11/96 (11,5%).

A Tabela II, especifica e demonstra a detecção de 19/96 amostras de *Staphylococcus aureus* (19,8%), 72 amostras de *Staphylococcus epidermidis* (75,0%) e 05 amostras de outras bactérias (5,2%). A frequência de isolamento de *Staphylococcus aureus* por hospital pesquisado foi: HULW-UFPA com 13 das 19 amostras isoladas (68,4%), seguido de Hospital Cardiológico com 03/19 (15,8%), Hospital Oncológico com 02/19 (10,5%) e por último, Hospital Geral com 01/19 (5,3%), como demonstrado no Gráfico 1. Em um levantamento conduzido por JAMES e cols. (1995) foram relatados índices de contaminação estafilocócica em 89,0% das amostras estudadas com 19,0% das mesmas identificadas como *Staphylococcus aureus*.

Ainda na Tabela II, analisando-se a frequência de *Staphylococcus aureus* por hospital analisado, verifica-se que no HULW-UFPA foram obtidas 13/19 amostras (68,4%) apresentando entre estas 5/13 amostras resistentes à meticilina, portanto com 38,5% de amostras MRSA. O que pode ser considerado um fato previsível por se tratar de hospital de ensino com características que predisõem este tipo de situação. Em estudo semelhante foram relatados índices de contaminação da ordem de 80%, sem no entanto especificar a proporção de amostras MRSA (Smith *et al.*, 1996). Nos

outros hospitais, utilizados neste estudo, não foi detectada a presença de amostras resistentes à meticilina.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os dados obtidos são concordantes com alguns trabalhos onde foi demonstrado que estes instrumentos podem estar colonizados por diferentes microrganismos incluindo patógenos. Por outro lado não existe ainda uma forma ou evidência capaz de incriminar os estetoscópios como fonte de infecção cruzada (Dias *et al.*, 1997; Marinella *et al.*, 1997; Bioschi *et al.*, 1999). Do ponto de vista epidemiológico o isolamento de amostras multirresistentes (MRSA) constitui um achado importante pelo fato do tratamento dessas bactérias ser feito apenas com vancomicina, a qual é potencialmente tóxica, de uso exclusivo em hospitais e de elevado custo.

Apesar de medidas efetivas de controle de infecções hospitalares causadas por agentes multirresistentes terem sido empregadas com sucesso em países desenvolvidos e em alguns hospitais brasileiros, incluindo vigilância e treinamento de lavagem de mãos antes e depois dos procedimentos com doentes, instituindo-se de isolamento para determinados pacientes colonizados e/ou infectados, e tratamento dos portadores nasais de *Staphylococcus aureus*, a grande maioria das instituições carece de recursos básicos na prevenção de infecções hospitalares (Mulligan *et al.* 1993).

Considerando que as mãos contaminadas constituem fatores de disseminação de bactérias, e o fato de estetoscópios circularem em muitas mãos dentro do hospital, haveria a possibilidade de que eles fossem também vetores de bactérias hospitalares patogênicas. Em área hospitalar, devido ao risco de transmissão de microrganismo que podem ser causadores de infecção, é necessário mais que uma simples lavagem das mãos com água e sabão: deve-se adotar a aplicação de antisséptico. Considerando-se que, a lavagem das mãos é responsável pela redução de até 80% das infecções hospitalares (Neto & Ribeiro, 1999).

Neste estudo, os estetoscópios demonstraram ser reservatórios de agentes infecciosos, que potencialmente poderiam causar infecções nosocomiais, sendo demonstrado a presença em 97,9% deles. O isolamento de amostras de *Staphylococcus aureus* identificadas como MRSA, caracteriza o potencial de ocorrência de infecção cruzada e disseminação de amostras multirresistentes no ambiente hospitalar, havendo a necessidade de medidas de descontaminação periódicas e rotineiras dos estetoscópios. Deste modo, recomenda-se a limpeza regular dos estetoscópios com produtos à base de álcool a 70%, Clorhexidina ou álcool isopropílico, como medida preventiva da disseminação de patógenos no ambiente hospitalar.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à direção dos hospitais participantes

do estudo e aos membros das respectivas Comissões de Controle de Infecção Hospitalar (Dra. Helena B. Germoglio, Enfermeira Zenaide Andrade, Farmacêutica Patrícia Simões e Dra. Maria de Lourdes Correia Lima) pela autorização para o trabalho e apoio dispensado na fase de coleta de material.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bioschi, M. C.; Colman, D.; Moreira, J. A. *et al.* Incidência de *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente (MRSA) em estetoscópios de uso hospitalar. *JBM*, 76: 09-14, 1999.
2. Bolmstrom, A.; Arvidson, S.; Ericson, M.; Karisson, A. A novel technique for direct quantification of antimicrobial susceptibility of microorganisms. In: *ICAAC*, Los Angeles. 1988.
3. Boyce, J. M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospital long-term care facilities: Microbiology, Epidemiology and Preventive Measures. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 13: 725 - 737, 1991.
4. Boyce, J. M.; Marguerite, M. J.; Pugliese, G. *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a briefing for acute care hospitals and nursing facilities. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 15: 105-115, 1994.
5. Brasil, Ministério da Saúde. Portaria 196, *Diário Oficial da União*, Brasília 28 de junho de 1983.
6. Brasil, Ministério da Saúde. Portaria 930, *Diário Oficial da União*, Brasília 27 de agosto de 1992.
7. Breathnach, A. S.; Jenkins, D. R.; Pedler, S. J. Stethoscopes as possible vectors of infections by staphylococci. *Br. Med. J.*, 305: 1573-1574, 1992.
8. Dias, C. A. G.; Kader, L. A.; D'Azevedo, P.; Becker, A.; Jurach, A.; Pescador, M. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in stethoscopes. *Rev. Microbiol.*, 28: 82-84, 1997.
9. Fernandes, A. T.; Barata, L. C. B.; Assumpção, L. B. - Introdução ao Controle de Infecção Hospitalar. *Rev. Meio de Cultura*, Eurofarma Hospitalar, ano II, número 06, 1999.
10. Gerken, A.; Cavanagh, S.; Winner, H. I. - Infection hazard from stethoscopes in hospital. *Lancet*, 01: 214-215, 1972.
11. James, J. S.; Hoerle, D.; Riekse, R. - *Stethoscopes: a potencial vector or infection?* 26: 296-299, 1995.
12. Marinella, M. A.; Pierson, C.; Chenoweth, C. - The stethoscope: a potencial source of nosocomial infection. *Arch. Intern. Med.*, 157: 786-790, 1997.
13. Medeiros, E. A. S.; Wey, S. B. Princípios gerais para prevenção e controle das infecções hospitalares. *Rev. Hosp. Racional*, Pfizer, Número 01., 1998.
14. Mulligan, M. E.; Murray-Leisure, K. A.; Ribner, B. S.; *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* a consensus review of the microbiology, pathogenesis and epidemiology with implications for prevention and management. *Am J. Med.* 94: 313 - 329, 1993.
15. National Committee For Clinical Laboratory Standards - *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests*. Approved Standard, M2 - T4. Ed. NCCLS, Villanova Pa. 1993.
16. Neto, M. C.; Ribeiro, J. L. M. V. - *Controle de Infecção Hospitalar Guia Prático*. Revinter, Rio de Janeiro, 1999. p.02, 23.
17. Rodrigues, E. A. C. - Histórico das Infecções Hospitalares, in: Rodrigues, E. A. C., Mendonça, J. S., Amarante, J. M. *et al.*, *Infecções Hospitalares, Prevenção e Controle*, Sarvier. São Paulo, 1997.
18. Sader H. S.; Pignatari, A. C.; Hollis, R. J. *et al.* Oxacilin and quinolone resistant *Staphylococcus aureus* in São Paulo, Brazil: a multicenter molecular epidemiology study. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 14: 260 - 268, 1993.
19. Santos F^o, L. - Estudo da Diversidade Clonal de Amostras de *Staphylococcus aureus* (MRSA) Isoladas em João Pessoa - PB. *Tese de Doutorado*. Instituto de Microbiologia da UFRJ. 1995.
20. Smith, M. A.; Mathewson, J. J.; Ulert, A. *et al.* Contaminated stethoscopes revisited. *Arch. Intern. Méd.* 156: 260 - 28, 1996

Endereço para correspondência
Rua José Jardim, 373 - B. dos Ipês,
João Pessoa, PB, 58028-160
Fone (0xx83)224.4661 - Fax (0xx83)226.5265
e-mail: santos@openline.com.br

Exame parasitológico de fezes: estudo comparativo entre os métodos Coprotest, MIFC, Baermann e Kato*

Parasitologic feces analysis: a comparative study using Coprotest, MIFC, Baermann and Kato methods

Rômulo Teixeira de Mello¹, Míriam Oliveira e Rocha¹ & Maria da Conceição Carneiro Gonçalves Moreira²

RESUMO - No presente trabalho foram realizados exames parasitológicos de fezes, em 182 amostras de pacientes residentes na Região Metropolitana de Belo Horizonte, utilizando os métodos Coprotest, MIFC, Baermann e Kato. Baseados nos resultados alcançados os autores concluíram que os métodos de Kato e Baermann são muito específicos para determinados parasitas, enquanto que o MIFC e o Coprotest mostraram-se capazes de detectar a quase totalidade de parasitas intestinais humanos.

PALAVRAS-CHAVE - Exame parasitológico de fezes; Coprotest; MIFC.

SUMMARY - Parasitologic feces analysis was carried out in 182 patients samples from the Belo Horizonte Metropolitan area, by Coprotest, MIFC, Baermann and Kato methods. Based on the results obtained, the authors concluded that the Kato and Baermann methods are specific for a few parasites, while the MIFC and Coprotest methods were able to detect most of the human intestinal parasites.

KEY WORDS - Parasitologic feces analysis; Coprotest; MIFC.

INTRODUÇÃO

Os métodos da sedimentação espontânea⁴ e da sedimentação por centrifugação – MIFC¹ - são rotineiramente empregados para o diagnóstico das parasitoses intestinais do homem. Isto pode ser justificado pela facilidade de execução e pela capacidade desses métodos de diagnosticar a maioria dos parasitas intestinais humanos. Cabe ressaltar que, devido a sua vida no meio externo ser muito curta e também pela metodologia empregada nas técnicas citadas, os trofozoítos de protozoários raramente são encontrados.

Além disso, é importante salientar que devido à biologia de alguns parasitas, como o *Strongyloides stercoralis*, *Enterobius vermicularis*, *Taenia* sp. e outros, torna-se mais difícil encontrá-los através destas técnicas rotineiras, sendo necessário então, quando há uma suspeita clínica, o emprego de métodos mais específicos para o seu diagnóstico.

No final da década de 1980 foi lançado um kit para exame parasitológico de fezes denominado Coprotest

(NL – Comércio Exterior Ltda, São Paulo – Brasil) que tinha como finalidade, aumentar a sensibilidade do exame parasitológico de fezes (EPF) para o diagnóstico das parasitoses intestinais, além de diminuir o contato com as fezes, tornando o processo mais higiênico. No sentido de fazer uma avaliação daquele, até então, novo método, Mello e cols., 1989, fizeram um estudo comparativo entre o método da sedimentação espontânea⁴ e o Coprotest, não encontrando entretanto, diferenças significativas entre eles. O presente trabalho tem como objetivo reavaliar o método do Coprotest, utilizando como parâmetros os métodos de MIFC¹, Kato⁵ e Baermann⁹.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta do material

No período de janeiro a maio de 1999, foram analisadas 182 amostras de fezes de pacientes do Sistema Único de Saúde (SUS) residentes, em sua maioria, no

Recebido em 09/8/2000
Aprovado em 09/11/2000

*Trabalho realizado no Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia/UFMG
¹Professores Adjunto da Disciplina de Parasitologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas
²Técnica de Laboratório do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas

Bairro São Benedito – Município de Santa Luzia, MG, que integra a Região Metropolitana de Belo Horizonte. As amostras foram coletadas sem conservador e assim que chegavam ao laboratório de Parasitologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG, eram divididas em 3 (três) porções: a 1ª era colocada no frasco Coprotest conforme a orientação especificada pelo fabricante, a 2ª no conservador MIF (mercurocromo 1:500, formol, glicerina e água), na proporção de uma parte de fezes para três do conservador, e a 3ª era mantida sem conservador.

Exames parasitológicos de fezes

Os exames eram realizados sempre no mesmo dia em que chegavam ao laboratório, e para isso foram empregados os seguintes métodos:

• Sistema Integrado Coprotest

Realizado de acordo com as instruções da NL Comércio Exterior – Divisão Diagnostek, e que são as seguintes:

- agitar o frasco coletor para homogeneizar;
- destacar o bico da tampa e pressionar o frasco, transferindo todo o conteúdo diretamente para um tubo de centrifuga, com 15 ml de capacidade;
- acrescentar 1 gota de detergente;
- acrescentar 3 ml de acetato de etila comercial;

- agitar o tubo, vigorosamente para homogeneizar;
- centrifugar a 2000 rpm durante 2 minutos;
- desprezar o sobrenadante;
- ressuspender o sedimento em 7 ml de água destilada e agitar novamente;
- centrifugar a 2000 rpm durante 2 minutos;
- decantar cuidadosamente o sobrenadante;
- acrescentar um volume de lugol, equivalente a 3-5 vezes ao do sedimento, e agitar para ressuspender;
- colocar 1 gota deste sedimento numa lâmina, cobrir com lamínula e examinar ao microscópio.

TABELA I
Números globais de resultados positivos e negativos relativos aos parasitas intestinais em 182 amostras de fezes examinadas

Método	Positivos		Negativos	
	Nº	%	Nº	%
Coprotest	65	35,7	117	64,3
MIFC	66	36,3	116	63,7
Kato	25	13,7	157	86,3
Baermann-Moraes	9	4,9	173	95,1

TABELA II
Distribuição da frequência de espécies de helmintos e protozoários em 182 pacientes residentes na Região Metropolitana de Belo Horizonte, utilizando os métodos Coprotest, MIFC, Kato e Baermann

Parasitas	Coprotest		MIFC		Kato		Baermann	
	NA	%	NA	%	NA	%	NA	%
Ancilostomídeos	4	2,2	4	2,2	3	1,6	-	-
<i>Ascaris lumbricoides</i>	12	6,6	12	6,6	12	6,6	-	-
<i>Schistosoma mansoni</i>	10	5,5	10	5,5	10	5,5	-	-
<i>Strongyloides stercoralis</i>	6	3,3	6	3,3	-	-	6	3,3
<i>Trichuris trichiura</i>	2	1,1	3	1,6	3	1,6	-	-
<i>Endolimax nana</i>	9	4,9	10	5,5	-	-	-	-
<i>Entamoeba coli</i>	21	11,5	22	12,1	-	-	2	1,1
<i>Entamoeba histolytica</i>	3	1,6	3	1,6	-	-	-	-
<i>Iodamoeba butschlii</i>	2	1,1	2	1,1	-	-	-	-
<i>Giardia lamblia</i>	10	5,5	10	5,5	-	-	-	-

NA = Número absoluto

- **MIFC (sedimentação por centrifugação)**
 - Executado de acordo com a técnica preconizada por Blagg e cols., 1955.
- **Baermann**
 - Realizado segundo Moraes, 1948.
- **Kato**
 - Baseado na técnica de Kato & Miura, 1954, com algumas modificações introduzidas por Katz, Chaves & Pellegrino, 1972.

RESULTADOS

Como pode ser verificado na Tabela I, os índices de positividade dos 182 exames parasitológicos de fezes apresentaram variações conforme o método empregado. No Coprotest e MIFC eles foram superiores (35,7 e 36,3% respectivamente), não havendo diferença significativa entre ambos. Nos métodos de Kato e Baermann estes índices foram de 13,7 e 4,9% respectivamente.

Na Tabela II pode ser observado que o helminto com prevalência mais elevada, detectada pelos métodos de MIFC, Coprotest e Kato, foi o *Ascaris lumbricoides*; dentre os protozoários, a *Entamoeba coli*.

DISCUSSÃO

Os dados alcançados no presente trabalho confirmaram especificidades diferentes de algumas técnicas para determinados parasitas. Assim é que o método de Kato⁵, confirmando o que já foi descrito anteriormente por diversos autores^{6,7,12,13,10,2}, apresentou positividade apenas para ovos de *Schistosoma mansoni*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e ancilostomídeos. Em relação ao método Baermann foram confirmados também os relatos da literatura^{9,12,13,11,10,2}, que mostraram a sua especificidade para larvas de helmintos, e em particular para a de *Strongyloides stercoralis*, em se tratando de fezes humanas. Entretanto, deve ser esclarecido que nas duas amostras em que os cistos *E. coli* foram encontrados também pelo método de Baermann, o número deles naquelas fezes era excessivamente grande. Esse fato pôde ser comprovado também pelos métodos de MIFC e do Coprotest, quando foi observado um grande número de cistos.

O método de MIFC, como é de amplo conhecimento geral, é muito utilizado em laboratório clínico, por ser capaz de diagnosticar vários parasitas intestinais através da concentração por centrifugação. Apresenta também, entre outros pontos positivos, a possibilidade da coleta de amostras múltiplas de fezes no mesmo frasco, permitindo assim aumentar a possibilidade de diagnóstico de vários parasitas, especialmente daqueles que apresentam um período negativo como é o caso da *Giardia lamblia*^{3,10}.

O Coprotest apresenta também o mesmo fundamen-

to do MIFC, ou seja, concentração por centrifugação e, além disso, mostra-se ser higiênico, pois elimina o contato do técnico do laboratório com as fezes frescas, além de facilitar a filtração do material diretamente do frasco receptor para o tubo de centrifugação. Para a coleta de amostras múltiplas, seria necessário a utilização de um frasco para cada amostra, o que o torna mais dispendioso que o MIFC, nessa situação.

Em relação aos métodos de Kato e Baermann, como já foi citado anteriormente, são específicos apenas para alguns helmintos e só devem ser adotados como métodos de rotina quando a prevalência daqueles parasitas na região for significativa. No presente estudo, a realização paralela desses 2 métodos não acrescentou nenhum dado significativo, pois todos os casos de esquistossomose, ascarirose, tricurose e estrogiloidose foram detectados também pelo Coprotest e pelo MIFC.

Finalmente, analisando os resultados alcançados, podemos concluir que os métodos Coprotest e MIFC apresentam a mesma sensibilidade, além de permitir o encontro de praticamente todos os helmintos e protozoários intestinais humanos (Tabelas 1 e 2). Em razão disso, acreditamos que podem ser empregados como métodos de rotina para o EPF em qualquer laboratório de análises clínicas do país.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Blagg, W., Schoegel, E. L., Mansour, N.S. & Khalaf, G.I. – A new concentration technic for demonstration of protozoa and helminth eggs in feces. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1: 23-28, 1955.
2. Cimerman, C. & Cimerman, C. – *Parasitologia Humana e Seus Fundamentos Gerais*, São Paulo: Atheneu, 1999, 376p.
3. Danciger, M. & Lopez, M. – Numbers of *Giardia* in feces of infected children. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 24: 237-242, 1975.
4. Hoffman, W. A., Pons, J. A. & Janer, J. L. – The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. *Puerto Rico J. Publ. Hlth.*, 9: 281-298, 1934.
5. Kato, K. & Miura, M. – Comparative examinations. *Jap. J. Parasit.*, 3: 35, 1954.
6. Katz, N., Chaves, A. & Pellegrino, J. – Simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 14: 397-402, 1972.
7. Katz, N., Coelho, P.M.Z. & Pellegrino, J. – Evaluation of Kato's quantitative method through the recovery of *Schistosoma mansoni* eggs added to human feces. *J. Parasit.*, 56: 1032-1033, 1970.
8. Mello, R.T., Rocha, M.O., Costa, C.A., Giovannini, H.R. & Moreira, M.C.C.G. – Estudo comparativo entre os métodos "Coprotest" e de Hoffman, Pons e Janer no diagnóstico de parasitoses intestinais. *Rev. Farm. Bioq. UFMG*, 10: 9-15, 1989.
9. Moraes, R.G. – Contribuição para o estudo do *Strongyloides stercoralis* e da estrogiloidose no Brasil. *Rev. Serv. Esp. Saúde Publ. (Rio de Janeiro)*, 1 (3): 507-624, 1948.
10. Neves, D. P., Melo, A.L., Genaro, O. & Linardi, P.M. – *Parasitologia Humana*, 10ª ed. São Paulo: Atheneu, 2000, 428p.
11. Nunes, M.P.O., Costa, M.S.G., Nunes, J.F.L., Silva, E.M.A. & Dantas, M.F.A. – Avaliação dos métodos de Faust e cols., de Hoffman e cols., de Baermann modificado, utilizados na rotina sistemática, para o diagnóstico das enteroparasitoses. *Rev. Bras. Anál. Clín.*, 25(1): 25-26, 1993.
12. Rey, L. – *Bases da Parasitologia Humana*, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992, 349p.
13. Rey, L. – *Parasitologia*, 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991, 731p.
14. Rocha, M.O., Costa, C.A., Mello, R.T., & Moreira, M.C.C.G. – Estudo comparativo da prevalência de parasitoses intestinais em escolares de Belo Horizonte, MG. *Rev. Bras. Anál. Clín.*, 26(4): 127-129, 1994.

ÍNDICE REMISSIVO

- Utilização do antígeno prostático específico (PSA livre/total), como marcador tumoral no diagnóstico de câncer de próstata e hiperplasia benigna prostática – Isabel Cristina R. Araújo Cardoso; Maria das Graças Alves Benfica; Chequer Buffe Chamone; Getislaine França de Castro & Klívia Borges Peixoto 3
- Tipagem HLA - classe II de pacientes portadores de *Diabetes mellitus* insulino-dependentes – Maria Inês de Moura Campos Pardini; Paula de Oliveira Montandon Hokama; Elenice Deffune & Paulo Eduardo de Abreu Machado 7
- Infecção pelo Papiloma Vírus Humano: correlação cito-histológica e avaliação dos sinais citológicos não-clássicos – Lara Verônica de Araújo Lopes & Paula Ávila Fernandes 11
- Avaliação da interferência do ácido ascórbico nas reações para a detecção de glicose e hemoglobina urinárias – Edson L. da Silva; Flávia Martinello; Emília R. Scharf; Daniel M. de Luca; Gabriela R. Amorim; Leandro Corradi & Toni R. Martins 15
- Antígeno prostático específico e descrição de novos marcadores para o câncer de próstata – Rose Daher & Mona Beaini 21
- Análise dos hemogramas de ratos submetidos à ação da peçonha de *Bothrops jararaca* – M. G. S. Pires; R. N. Moresco; L. C. Manetti; L. P. Spillari; T. P. Munhoz & J. R. Oliveira 31
- Utilização do sistema automatizado BacT/Alert® para o cultivo de fluidos biológicos não sanguíneos – Carlos Henrique Pessôa de Menezes e Silva 35
- Excreção de oligossacarídeos em indivíduos com Doença de Gaucher tipo 1 – Dênis Reis de Assis; Ana Paula Costa Beheregaray; Ricardo Flores Pires; Cristiano Silveira da Silva; Kristiane Michelin; Roberto Giugliani & Janice Carneiro Coelho 39
- Avaliação da dosagem de Proteína C-Reativa no soro e líquido cefalorraquidiano para o diagnóstico diferencial das meningites bacterianas e meningites de etiologia presumivelmente viral – Edna Maria Vissoci Reiche; Jaqueline Capobianco; Gisele Alcântara de Oliveira; Helena Kaminami Morimoto; Tieme Matsuo; Sueli Hiromi Tuboi; Sílvia Tieko Yasunaga; Elaine Regina Delicato; Ana Paula Correa Pardal & Jovelina Almeida de Andrade 43
- Pesquisa de eosinófilos em secreção nasal no Hospital Universitário de Florianópolis – S. T. Steinwandter; P. Tenconi & P. Haas 49
- Formação de agentes multiplicadores em doenças parasitárias – Dina Lúcia Moraes Falavigna; Ana Lúcia Falavigna Guilherme; Silvana Marques de Araújo; Áurea Regina Teles Pupulim; Maria Luíza Gaspar Goulart Dias & Nadir Rodrigues Marcondes 53
- Dermatofitose: etiologia e patogenia – Paulo Murillo Neufeld 59
- A importância de *Candida dublinensis* no diagnóstico laboratorial das micoses oportunistas – Sydney Hartz Alves; Loiva T. Otonelli Oliveira & Janio Moraes Santurio 65
- Efeitos de quitosana e naringenina sobre lipídeos no soro de coelhos com hiperlipidemia induzida por Triton – Lopes, R. M.; Oliveira, T. T.; Nagem, T. J.; Pinto, A. S.; Camini, N. A. & Leão, M. A. 69
- Avaliação imunológica da leucemia mielóide aguda através da citometria de fluxo – Janaina Cristiana de Oliveira Crispim; Carla Kaline Fernandes Câmara; Henrique Eduardo Macedo da Fonseca; Aldair de Souza Paiva; Francisco Fernandes do Nascimento Júnior; Maria Zélia Fernandes; Maria Cleide de Araújo Lopes; Dany Geraldo Kramer Cavalcanti e Silva & Geraldo Barroso Cavalcanti Júnior . 73
- Piedra Negra - Relato de casos – Lima, E. O.; Oliveira, N. M. C.; Pontes, Z. B. V.S.; Carvalho, M. F. F. P. & Guerra, M. F. L. 81
- Animais domésticos como reservatórios de espécies termófilas de *Campylobacter* – Elisabeth Loshchagin Pizzolitto & Antonio Carlos Pizzolitto .. 83
- Os superantígenos e as doenças humanas – Melissa Siviero & Shirley Rosa Utiyama 87
- Estimativa dos lipídeos totais no soro baseada nas determinações de colesterol e/ou triglicérides – Daniela S. Gruber; Adriana Pinho-Pinto; Marisa Cristina Guerra; Marcelo Kikuti; Aguinaldo José do Nascimento; Mariléia Scartezini; Vânia M. Alcântara & Geraldo Picheth 97
- O papel da Gonadotrofina Coriônica humana (hCG) na infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) – Adriano Guardini; Jahiel M. de S. Tavares & Maurício Pacheco de Andrade 101
- Associação da trichomoníase com lesões pré-malignas e malignas do colo uterino – Eliete da Costa Silveira; André Tavenard & Ediberto Nunes 111
- Temas Livres 115
- Avaliação dos vasos, da agregação plaquetária e do mecanismo da anticoagulação natural nas doenças coronarianas – Coelho, E. A. F.; Vieira, L. M.; Dusse, L. M. S.; Reis, C. V.; Freitas, M. L.; Diniz, M. C.; Costa, C. C. & Carvalho, M. G. 183
- Meio CE e Glutaraldeído na preservação de plaquetas para o controle de qualidade em hematimetria – Fernanda Emendörfer; Lígia Maria Claro; Samuel Ricardo Comar; Aguinaldo José do Nascimento & Maria Suely Soares Leonart 191
- Otimização da técnica de RT-PCR para avaliação da expressão gênica do receptor da LDL em células mononucleares periféricas de indivíduos hipercolesterolêmicos tratados com medicamentos hipolipemiantes – Luis Salazar Navarrete, Mário Hiroyuki Hirata & Rosário Dominguez Crespo Hirata 195
- Efeitos de corantes naturais nos níveis séricos de colesterol e colesterol-HDL em ratos hiperlipidêmicos – Silva, R. C.; Valente, S. T. X.; Oliveira, T. T.; Pinto, A. S. & Costa, N. M. B. 201
- Artigo de revisão
- Infecções oportunistas por protozoários parasitos: uma revisão sobre *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis*, *Isospora belli* e microsporídios – Geraldo Attilio De Carli 205
- Beta-Lactamase de Espectro Estendido: definições, importância clínica e detecção laboratorial – Carlos Henrique Pessôa de Menezes e Silva 215
- Perfil eletroforético das proteínas e concentração das imunoglobulinas plasmáticas em pacientes assintomáticos e sintomáticos portadores de HIV – Queiroz, M.G.R.; Oliveira, E. M.; Santos, M. S.; Holanda, B. A. P.; Alencar, N. M. N & Melo, C. L. 221
- Tireotropina em sangue seco em papel filtro: uma nova alternativa de uso do kit ACS:180™ em luminômetros manuais ou semi-automáticos – Eurico Camargo Neto 225
- Prevalência de triglicérides em pessoas de diversas faixas etárias da cidade de Manaus – Paulo Roberto Castro da Costa; Nivea Maria Pedroza Marques; Edvar Fernandes Filho; Tirza Peixoto Mattos; Maria Rosa Lozano Borrás; Ivete de Araújo Roland & Manoela Oliveira Lopes 229
- Estabelecimento dos valores normais do RDW para a população de Curitiba – Paulo H. da Silva; Mariella Zaroni; Samuel R. Comar & Hemerson B. Alves 231
- Estudos sobre a variação interobservadores em citologia cérvico-vaginal – Carla Filippin; Leila Maria Borsarini Felipe; Aguinaldo José do Nascimento & Maria Suely Soares Leonart 239
- Proposta de um modelo de padronização para o exame sumário de urina – Queiroz, M. G. R.; Alencar, N. M. N & Melo, C. L. 243
- Avaliação da função plaquetária de doadores de sangue – Neiva, T. J. C.; Brocardo, G.; Ferreira, J. S.; Ferreira, V. L & Castro, C. E. S. 249
- Comparação do crescimento em corda do bacilo da tuberculose nos caldos sangue lisado seletivo e Middlebrook – Luiz Roberto Bigão Giacomelli; César Helbel; Roger Leandro Nunes Ogassawara; Angela Maria Werneck Barreto & Celso Luiz Cardoso 253
- Artigo de revisão
- Esteróides anabolizantes e suas alterações em análises clínicas – Estefânia Perin Fonseca & Flávia Valladão Thiesen 255
- Desempenho do teste ELISA-“conta” na rotina laboratorial para o diagnóstico da neurocistose humana – José Edson Paz da Silva; Adelaide José Vaz; Maria de Lourdes Amud Ali dos Reis; Marinês Lavall Dias & João Baptista dos Reis Filho 261
- Métodos laboratoriais disponíveis para o diagnóstico da Filariose Linfática – Abraham Rocha 265
- Avaliação dos níveis plasmáticos do fragmento 1+2 da protrombina (F₁₊₂) na Doença Hipertensiva Específica da Gravidez (DHEG) – Luci Maria Sant’Ana Dusse; Lauro Mello Vieira & Maria das Graças Carvalho 271
- Prevalência de vaginites específicas e inespecíficas em mulheres na pós-menopausa – Maria Salete Rebouças Cardoso; Eleni Souto Nóbrega Ramos; Ana D’arc Pessoa de Castro; Diana Karla Nobrega Ramos; Dany Geraldo Kramer Cavalcanti e Silva & Geraldo Barroso Cavalcanti Júnior 275
- Avaliação hormonal, bioquímica e citológica em mulheres com idade entre 40 e 55 anos, sem reposição hormonal, no interior de Pernambuco-Brasil – Maria Teresa Janssem de Almeida Catanho; Carlos Eduardo de Queiroz Lima & Jacinto da Costa Silva Neto 279
- Isolamento de amostras multirresistentes de *Staphylococcus aureus* em estetoscópios usados no ambiente hospitalar – Bismark Azevedo Cruz de Araujo; Alessandra Lages de Oliveira & Lauro Santos Filho 285
- Exame parasitológico de fezes: estudo comparativo entre os métodos Coprotest, MIFC, Baermann e Kato – Rômulo Teixeira de Mello; Miriam Oliveira e Rocha & Maria da Conceição Carneiro Gonçalves Moreira 289